Synthese von Lactoflavin, Flavin-glucosiden und Flavin-radikalen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

der Hohen Philosophischen Fakultät

(II. Sektion)

der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt am 15. Januar 1937

von

RUDOLF STROBELE

aus Leonberg i. Württ.

1937

Buchdruckerei Albert Becht, Tübingen, Hirschgasse 16

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Einleitung	9
Theoretischer Teil	10
A. Synthese von o-Nitranilin-glucosiden	14
B. Synthese des Lactoflavins	23
C. Synthese von Flavin-glucosiden	32
D. Synthese von Flavin-radikalen	36
Experimenteller Teil	42

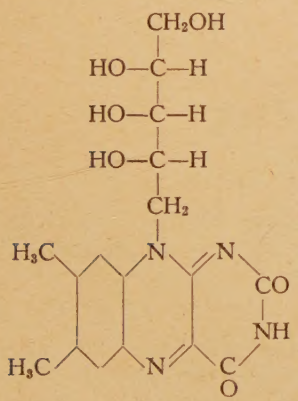
Diese Arbeit wurde in der Zeit von Mitte Oktober 1934 bis Dezember 1936 am Kaiser-Wilhelm-Institut für medizinische Forschung, Heidelberg, Institut für Chemie, ausgeführt. Herrn Professor Dr. Richard Kuhn bin ich für die weitgehende Förderung und sein stetes Interesse an dieser Arbeit zu großem Dank verpflichtet.

Meinem hochverdienten Lehrer, Herrn Geheimrat Professor Dr. Heinrich Wieland, in dessen Laboratorium ich meine chemische Ausbildung erhielt, spreche ich auch an dieser Stelle meinen besten Dank aus.

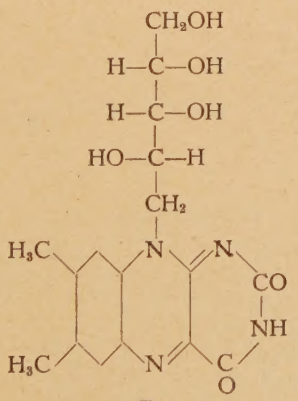
Einleitung[1]).

R. Kuhn, P. György und Th. Wagner-Jauregg [1]) haben im Jahre 1933 einen gelben, stark grün fluoreszierenden Farbstoff aus Molke isoliert. Sie gaben ihm den Namen Lactoflavin. Es zeigte sich, daß er ein unentbehrlicher Bestandteil der Nahrung junger Ratten darstellt. Die Ratte braucht für normales Wachstum, das bedeutet eine Gewichtszunahme von 40 g pro Monat, eine tägliche Dosis von 0,008 mg reinstes Lactoflavin.

Seine Verwandtschaft mit dem von O. Warburg und W. Christian [1]) schon 1932 entdeckten gelben Ferment aus Hefe zeigt diese Verbindung durch die Eigenschaft, bei Belichtung in alkalischer Lösung in ein chloroformlösliches Abbauprodukt $C_{13}H_{12}N_4O_2$ überzugehen. R. Kuhn und H. Rudy gelang es nun, durch weiteren alkalischen Abbau für dieses Spaltstück die Konstitution des 6,7,9-Trimethylisoalloxazins festzustellen. Der endgültige Konstitutionsbeweis wurde durch die Synthese von R. Kuhn, K. Reinemund und F. Weygand geliefert. Was bei der alkalischen Photolyse aus dem Vitamin abgespalten wird, ist nach R. Kuhn, Th. Wagner-Jauregg und H. Rudy eine Tetraoxybutylgruppe, die ihren Sitz an dem Stickstoffatom in Stellung 9 haben mußte.



I



II

1) S. Zusammenfassungen über Lactoflavin: R. Kuhn, Angewandte Chemie 49, 6 (1936); H. Rudy, in C. Oppenheimer, Handbuch der Biochemie. 3. Erg. Bd. 1935. Dort auch genauer Literaturnachweis.

Das von R. Kuhn und F. Weygand synthetisierte 6,7-Dimethyl-9-l-araboflavin (II) zeigt dann auch weitgehende Aehnlichkeit mit dem in der Molke aufgefundenen Lactoflavin $C_{17}H_{20}N_4O_6$. Doch war klar, daß für die zuckerähnliche Seitenkette die acht stereoisomeren Pentosen in Betracht zu ziehen waren. Da die dem Chromophor zunächst stehende Hydroxylgruppe die Richtung des Drehungssinnes bestimmt, wie die Drehung der synthetisierten l-Arabo- und d-Xylo-Flavine zeigte, so kam für die Pentose-Seitenkette des Lactoflavins nur noch die d-Lyxose und d-Ribose in Betracht. Das 6,7-Dimethyl-9-l-araboflavin (II) unterscheidet sich nun im Wachstumsversuch und besonders im Schmelzpunkt der Tetraacetyl-Verbindung deutlich vom Lactoflavin. Die l-Lyxose schied mit großer Wahrscheinlichkeit aus, da sie bis jetzt in der Natur noch nicht aufgefunden worden war. Um so wahrscheinlicher war es aber, die d-Ribose, welche ein wichtiger Bestandteil der Nucleoside ist, auch bei diesem Naturprodukt als Baustein anzusehen. Die Synthese des 6,7-Dimethyl-9-d-riboflavin (I), die in Zürich [2]) aus natürlicher Ribose und am hiesigen Institut [3]) aus synthetischer Ribose gelang, lieferte den Beweis, daß dem Lactoflavin (Vitamin B_2) die Konstitution eines 6,7-Dimethyl-9-d-ribityl-isoalloxazins (I) zuzuschreiben ist.

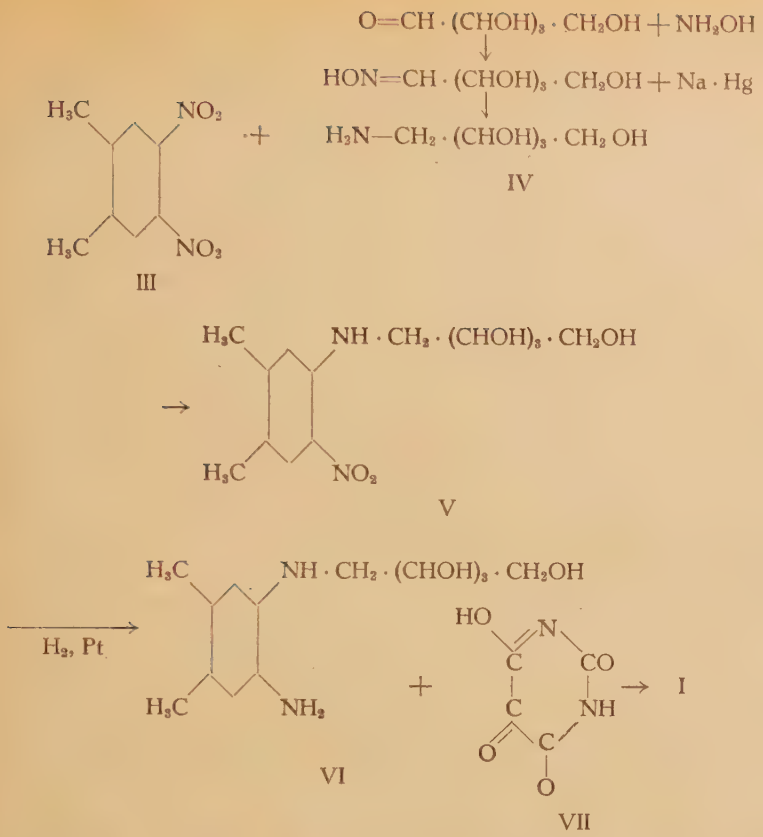
Theoretischer Teil.

Die Synthese von in 9-Stellung eine Pentit-Kette tragenden Flavinen gelang R. Kuhn und F. Weygand [4]) in ähnlicher Weise wie die des 6,7,9-Trimethylflavins.

2) P. Karrer, K. Schöpp und F. Benz, Helv. chim. Acta 18, 426; H. v. Euler, P. Karrer, M. Malmberg, K. Schöpp, F. Benz und B. Becker, ebenda 18, 522 (1935); P. Karrer, B. Becker, F. Benz, P. Frei, H. Salomon und K. Schöpp, ebenda 18, 1435 (1935).

3) R. Kuhn, K. Reinemund, H. Kaltschmitt, R. Ströbele und H. Trischmann, Naturw. 23, 260 (1935); R. Kuhn, K. Reinemund, F. Weygand und R. Ströbele, B. 68, 1765 (1935).

4) B. 67, 2084 (1934).



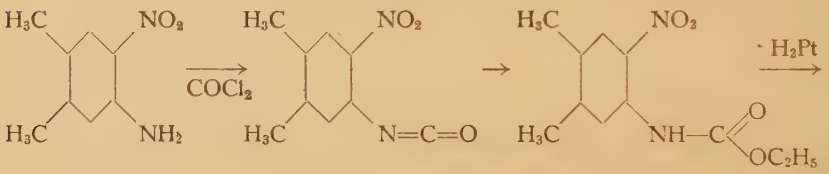
Leider verliefen die verschiedenen Stufen dieser Synthese mit schlechter Ausbeute, sodaß man von großen Mengen Zucker ausgehen mußte, um die zur Identifizierung nötigen Farbstoffmengen zu erhalten. Ich stellte die dem 6,7-Dimethyl-9-l-araboflavin (II) spiegelbildliche d-Araboverbindung nach dieser Methode dar. Die erste Stufe, die Bildung des Oxims aus d-Arabinose und Hydroxylamin gibt eine gute Ausbeute, aber schon die anschließende Reduktion mit Natronamalgam nach Roux [5]) brachte einen Verlust von 60—70 % des Zuckers *). Die nächste Stufe, die Kondensation des Amins (IV) mit 1,2-Dimethyl-4,5-dinitrobenzol (III) gelang auch nur zu 35 % d. Th. Die Nitrogruppe (in V) ließ sich quantitativ reduzieren. Die anschließende

5) M. Roux, Ann. chim. (8), 1, 165 (1904).

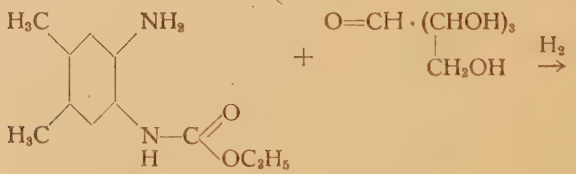
*) Inzwischen ist die katalytische Hydrierung von Zuckeroximen zu Zuckeraminen von Hrn. F. Weygand (Dissertation Frankfurt a. M. 1936, S. 49 f.) so weit ausgearbeitet worden, daß man 85 % d. Th. erhält.

Kondensation mit Alloxan (VI und VII), die weitaus am schlechtesten ging (etwa 1 % Ausbeute an 6,7-Dimethyl-flavinen), konnte auf Untersuchungen am hiesigen Institut hin[6]) durch Borsäurezugabe auf fast theoretische Höhe (90—95 % d. Th.) gebracht werden. Somit erforderte eine ergiebige Flavinsynthese die leichte Darstellung von N-Polyoxy-alkyl-o-phenylendiaminen (VI). Diese sind so leicht zersetzlich, daß man sie zur Bestimmung der Ausbeute nicht isoliert, sondern sofort der Kondensation mit Alloxan-Borsäure unterwirft.

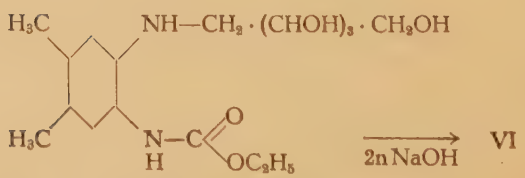
P. Karrer und Mitarbeiter[7a]) gelang es, auf einem in bezug auf den Zucker kürzeren Reaktionsweg zu mit Pentit- und Hexitresten in 9-Stellung substituierten Flavinen zu kommen.



VIII IX X



XI



XII

Auch diese Synthese wurde von mir für die Darstellung von Flavinen benutzt. Es zeigte sich, daß die ersten Stufen der Synthese[7b]) (VIII—XI) mit einer 80 %igen Ausbeute durch-

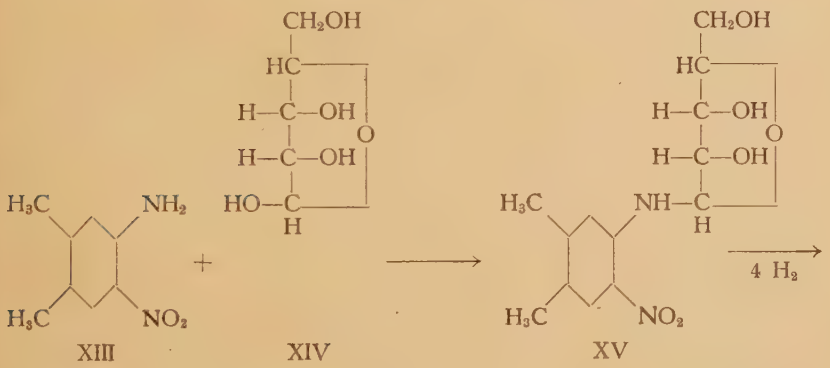
6) R. Kuhn und F. Weygand, B. 68, 1282 (1935).

7a) P. Karrer, K. Schöpp, F. Benz und K. Pfaehler, B. 68, 216 (1935), Helv. Chim. Acta 18, 69 (1935).

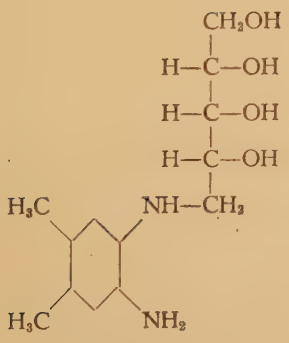
7b) P. Karrer und Mitarbeiter gewinnen das Urethanprodukt X durch Umsetzen von Dimethylanilin mit Chlorkohlensäureester. Das hier beschriebene Verfahren, das eine bessere Ausbeute liefert, wurde von Herrn K. Reinemund am hiesigen Institut ausgearbeitet.

zuführen sind. Die reduzierende Kondensation des Amins (XI) mit Arabinose liefert XII mit 70—80%iger Ausbeute. Die anschließende Kondensation des verseiften Produktes mit Alloxan zu Flavin ergibt trotz Borsäurezugabe nur eine Ausbeute von 20%, was nur verständlich ist, wenn man annimmt, daß die Carbäthoxygruppe nicht vollständig abgespalten worden ist. Karrer gebrauchte dazu 2 n-NaOH. Doch scheint es, daß die verseifende Wirkung zu schwach ist. Versuche, mit alkoholischer Kalilauge von höherer Konzentration zu verseifen oder nach der Verseifung das Diamin mit Buthylalkohol auszuschütteln, führten zu keiner Verbesserung.

Ich versuchte daher, N-Polyoxyalkyl-o-phenylen-diamine auf einem besseren Wege zugänglich zu machen. Dies gelang mir durch katalytische Hydrierung von o-Nitranilin-glukosiden, für die ich eine einfache und sehr ergiebige Synthese fand.



XIII XIV XV



XVI (VI)

A. Synthese der o-Nitranilin-glucoside.

Schon H. Schiff[8]) berichtet, daß sich wasserfreie Glukose mit Anilin oder Toluidin unter Wasserelimination verbindet. Doch scheint die Einführung einer Nitrogruppe in den Benzolkern, besonders in o-Stellung, die Reaktionsfähigkeit der Aminogruppe stark zu verändern. Wie A. Hantzsch und O. Schwab[9]) berichten, reagieren 2 Mole p-Nitranilin schon bei Zimmertemperatur in Alkohol-Aether mit Benzaldehyd, während W. Borsche[10]) auch nach tagelangem Kochen von o-Nitranilin und Benzaldehyd, allerdings noch mit einem Zusatz von Brenztraubensäure, das o-Nitranilin unverändert zurückgewinnen konnte.

Ich versuchte trotzdem eine Kondensation durchzuführen, indem ich 1-Amino-2-nitro-4,5-dimethylbenzol (XIII)[11]) mit der äquivalenten Menge l-Arabinose in absolut alkoholischer Lösung im Bombenrohr mehrere Stunden auf 100° erhitzte. Um zu untersuchen, ob eine Kondensation stattgefunden hat, wurde eine Probe der Lösung mit Wasser verdünnt und mit Benzol durchgeschüttelt. Diese „Phasenprobe" ergab, daß sich ein orangegelber wasserlöslicher Farbstoff gebildet hat, der sich vom nicht umgesetzten Nitroxylidin, das im Benzol bleibt, leicht abtrennen läßt. Zur präparativen Aufarbeitung kam dieses Verfahren aber nicht in Betracht, da dafür große Mengen Wasser notwendig gewesen wären und sich zeigte, daß beim Abdampfen des Wassers teilweise Verseifung des gebildeten o-Nitranilinglukosides eintritt. Zur Trennung des nicht umgesetzten Nitroxylidins von dem Kondensationsprodukt wurde daher die chromatographische Adsorption benutzt. Das Nitroxylidin-arabinosid zeichnet sich durch ein beträchtliches Haftvermögen an Aluminiumoxyd aus, während das unveränderte Nitroxylidin glatt ins Filtrat geht. Die Ausbeute bei dieser Art der Kondensation war aber sehr schwankend. Um eine Verschiebung des Gleichgewichts Nitroxylidin + Zucker $\rightleftarrows$ Nitranilin-glucosid nach rechts zu erreichen, wurde ein vierfacher Ueberschuß von Nitroxylidin genommen. Das überschüssige Nitroxylidin ließ sich aus dem

8) A. 154, 30.
9) B. 34, 833.
10) B. 41, 3893.
11) Diese Verbindung wurde von der I. G. Farbenindustrie Werk Leverkusen in freundlicher Weise zur Verfügung gestellt. Sie läßt sich herstellen nach E. Noelting und G. Thesmar, B. 35, 628 (1902).

Filtrat des Chromatogramms quantitativ zurückgewinnen. So konnten Ausbeuten von ungefähr 60 % d. Th., auf den Zucker bezogen, erhalten werden.

Als ich bei einem Ansatz ein Nitroxylidin verwandte, das vorher in benzolischer Lösung durch eine Säule von Aluminiumoxyd filtriert worden war, sank die Ausbeute bei der Kondensation auf Spuren ab. So hatte ich zwei Nitroxylidine in Händen, die beide bei 140° schmolzen, von denen das eine — chromatographisch gereinigt — mit Zucker nicht reagierte. Es lag nahe, den anfänglichen Erfolg bei der Kondensation auf eine Beimischung eines leichter reagierenden isomeren Nitroxylidins zurückzuführen. Doch das durch Verseifung eines früher synthetisierten Kondensationsproduktes erhaltene Nitroxylidin schmolz ebenfalls bei 140° und zeigte mit dem „inaktiven" Nitroxylidin von oben keine Depression. Es war daher nur möglich, daß in dem anfänglich verwandten Nitroxylidin trotz zweimaligem Umkristallisierens (aus Alkohol) noch Spuren einer Substanz enthalten waren, die als Katalysator wirkten. Das Nitroxylidin wird nun technisch aus der Dinitroverbindung durch Behandeln mit Ammoniak unter Druck und nachheriges Umkristallisieren aus Salzsäure gewonnen. Es war daher leicht möglich, daß dem Nitroxylidin Ammonchlorid beigemischt war. Ein Ansatz, der mit chromatographisch gereinigtem Nitroxylidin und l-Arabinose nach zweistündigem Erhitzen noch keine Umsetzung zeigte, konnte nun wirklich auf Zusatz von 1/20 Mol Ammonchlorid durch weiteres eineinhalbstündiges Erhitzen in alkoholischer Lösung zu einer 60%igen Umsetzung gebracht werden. Da die Bildung von Glucosiden allgemein durch Säuren beschleunigt wird und Ammonchlorid in alkoholischer Lösung sauer reagiert, ist seine Wirkungsweise verständlich. Ich hatte schon vorher versucht, die Kondensation durch Spuren von Essigsäure zu beeinflussen. Dabei trat aber nur insofern eine Wirkung auf, als sich die Einstellung eines Gleichgewichtes schneller vollzog, aber auf einer ungefähr 5 %igen Umsetzung stehen blieb.

Um festzustellen, ob noch andere salzsaure Amine oder auch freie Salzsäure die Einstellung des Gleichgewichts beeinflussen, wurden mit diesen Substanzen noch weitere Kondensationsversuche gemacht und dabei folgende Ergebnisse erzielt: Anilinchlorhydrat und freie Salzsäure wirken unter Schwarz-

färbung zersetzend, Ammonsulfat und Natriumchlorid sind ohne Einfluß. Methylaminchlorhydrat*) hat dieselbe Wirkung wie Ammonchlorid (60 %ige Umsetzung), während Di- und Trimethylaminchlorhydrat ungefähr 25 %ige Umsetzung hervorrufen. Die Umsetzungen wurden wieder durch die Phasenprobe verfolgt. Die Konzentrationen in der benzolischen und wässerigen Phase wurden mit dem Stufenphotometer (Zeiß) mit Filter S 43 gemessen. Dabei ist für

100 γ Nitroxylidin in 1 ccm Benzol; $\varepsilon = 2{,}14$
100 γ Arabinose-nitroxylidid in 1 ccm H_2O; $\varepsilon = 1{,}84$.

Die Ausbeuten konnten durch überschüssiges Nitroxylidin auf ungefähr 80 % d. Th. gebracht werden. Für die Herstellung des wertvollen d-Ribose-Kondensationsproduktes wurde dieses Verfahren angewandt. Ein Verlust an Nitroxylidin tritt, wie schon erwähnt, nicht auf, da es sich quantitativ zurückgewinnen läßt. Die nicht umgesetzte Ribose läßt sich ebenfalls durch starkes Auswaschen des zum Chromatogramm benutzten Aluminiumoxyds zurückgewinnen.

Es wurde versucht, schon durch einmaliges Kochen und ohne überschüssiges Nitroxylidin zu einer quantitativen Umsetzung des Zuckers zu kommen, indem das bei der Kondensation entstandene Wasser in einer besonderen Apparatur laufend entfernt wurde. Wie wichtig es ist, in wasserfreiem Medium zu erhitzen, zeigte ein Ansatz, bei dem in 98 %igem Alkohol erhitzt wurde; dabei kam ich trotz vierstündigen Erhitzens auf nur 30 %ige Umsetzung. Durch anschließende Entwässerung der kochenden Lösung konnte die Ausbeute auf über 60 % gebracht werden. Leider war es aber nicht möglich, darüber hinaus auch noch das bei der Kondensation entstandene Wasser — es ist unter den angewandten Bedingungen ungefähr 1 % — zu entfernen. Das könnte damit zusammenhängen, daß die Nitranilin-glucoside auch in gelöstem Zustand Wasser sehr stark binden. Es ist daher nicht zu umgehen, daß man die zurückgewonnenen Ribose zusammen mit dem Nitroxylidin ein zweites Mal am Rückfluß erhitzt. So kommt man auch ohne überschüssiges Nitroxylidin auf Ausbeuten von 80 % d. Th.

*) Es ist vorteilhafter mit Ammonchlorid zu kondensieren, da Methylaminchlorhydrat bei längerem Erhitzen die alkoholische Lösung durch Zersetzungsprodukte dunkel färbt.

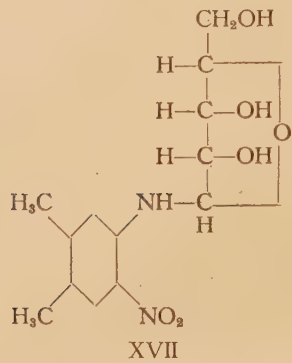
Die Pentosen unterscheiden sich in ihrer Reaktionsfähigkeit gegenüber Nitroxylidin nur wenig. Bei der Kondensation von Hexosen sank die Ausbeute von 60 % auf ungefähr 40 % herab. Die Mannose eignet sich wegen ihrer größeren Löslichkeit in Alkohol weit besser als die Glucose zur Kondensation.

Die Nitranilin-glucoside kristallisieren in schön ausgebildeten gelben prismatischen Nadeln. Davon abweichend kristallisieren in orangegelben rhombischen Plättchen das d-Glucose-2-nitro-4,5-dimethyl-anilid (Formel XXII ohne Acetyl) und die zweite Modifikation der entsprechenden l-Araboverbindung (Formel XIX ohne Acetyl). Sie hinterlassen alle auf der Zunge einen stark bitteren Geschmack. Ihre Löslichkeit ist im kalten Wasser nicht groß. Heißes Wasser löst sehr gut, bewirkt aber bei längerer Einwirkung teilweise Verseifung. Das beste Lösungsmittel und gleichzeitig zum Umkristallisieren sehr geeignet ist absoluter Alkohol. Die Säureempfindlichkeit dieser Glucoside ist sehr groß. n 10 Salzsäure bewirkt schon bei 20° in 10 Minuten vollkommene Verseifung.

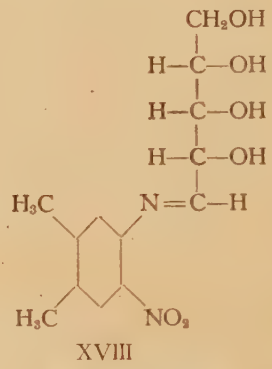
Die Analysenwerte und Schmelzpunkte waren nur mit großer Schwierigkeit in gleichbleibender Größe zu erhalten. Es ist dies auf den wechselnden Gehalt an Kristallwasser zurückzuführen; dieses läßt sich nur schwierig ohne Zersetzung vollkommen entfernen. (Hydrolyse durch eigenes Kristallwasser.) Die im folgenden angegebenen Schmelzpunkte sind nur bei genauestem Einhalten der Kristallisations- und Trocknungsbedingungen zu reproduzieren. Es geschah öfters, daß Schmelzpunkte von reinsten Präparaten beim Umkristallisieren z. B. von 168° auf 120° herabgingen, ohne daß irgendwelche Zersetzung eingetreten war, die ja durch die Phasenprobe jederzeit festzustellen ist. Die Drehung der o-Nitranilin-glucoside ist meist sehr schwach (10° bis 30°). Außerdem sagen die gefundenen Werte wegen der großen Fehlergrenze (bedingt durch die geringe Konzentration) nur wenig aus.

Daher ging ich dazu über, ihre Charakterisierung über die entsprechenden Acetylderivate durchzuführen, die sich durch Einwirkung von Essigsäureanhydrid in Pyridin leicht gewinnen lassen. Es sind dies allgemein sehr schön kristallisierende Verbindungen, ohne Kristallwasser, mit einem eindeutigen Schmelzpunkt, guter Löslichkeit in Estern und einem starken Drehungsvermögen. Die Bestimmung der Acetylgruppen zeigte, daß

Pentosen durchweg drei Acetylgruppen und Hexosen vier Acetylgruppen liefern. Aus diesem Grund ist für die Verkettung von Nitranilin und Zucker eine glucosidische Bindung anzunehmen und nicht die einer Schiff'schen Base XVIII, wie man auch erwarten könnte.



XVII



XVIII

Für die glucosidische Bindung spricht auch die Lage des Absorptionsspektrums (s. Abb. 1 S. 64). Beim Hinzukommen einer neuen Doppelbindung in Konjugation zur Nitrogruppe müßte eine Verschiebung der Bande nach dem Sichtbaren gegenüber Nitroxylidin eintreten, was aber nicht der Fall ist. Auch das starke Drehungsvermögen ist eine Stütze für die angenommene Bindungsart.

Die Frage, ob bei den Pentosen-o-nitraniliden ein furanoider oder ein pyranoider Ring vorliegt, konnte durch die Synthese einer Tritylverbindung mit großer Wahrscheinlichkeit geklärt werden. Behandelt man zuckerähnliche Verbindungen, die mehrere freie OH-Gruppen enthalten, mit Triphenylchlormethan, so reagiert in fast allen Fällen die endständige Hydroxylgruppe unter Bildung einer Tritylverbindung. Ist die entständige OH-Gruppe nicht frei, so kommt keine Umsetzung zustande.

Zur Ausarbeitung des Verfahrens der Tritylierung wurde ein Hexose-o-nitranilid benutzt, das bestimmt eine freie endständige OH-Gruppe haben mußte. Behandelt man d-Mannose-2-nitro-4,5-dimethyl-anilid (XXIII, ohne Acetyl) mit Triphenylchlormethan in trockenem Pyridin in der Kälte, so findet auch bei tagelangem Stehen keine Reaktion statt. Erwärmt man die Lösung 2 Stunden lang auf 90°, so setzt sich das Glucosid zu 90 % zu der Tritylverbindung um. Diese Ausbeute wird be-

stimmt durch Colorimetrierung des nicht umgesetzten wasserlöslichen Nitroxylidin-mannosides. Die Tritylverbindung ist sehr gut löslich in Benzol und läßt sich so quantitativ abtrennen. Zur Abtrennung des aus überschüssigem Triphenylchlormethan entstandenen Triphenylcarbinol wird die Petrolätherlösung mit wässrigem Methanol ausgeschüttelt: dabei geht das Tritylmannosid (XXV) fast quantitativ in das wässrige Methanol. Es kristallisiert aus dem Alkohol in schön ausgebildeten, gelben prismatischen Nadeln mit einem Schmelzpunkt von 130° (unter Zersetzung: k. Th.). Trocknet man die Substanz bei 30° (5 mm, über P_2O_5), so erhält sie noch 1 H_2O Kristallwasser.

l-Arabo-2-nitro-4.5-dimethyl-anilid (XIX, ohne Ac.), das auf dieselbe Art mit Triphenylchlormethan umgesetzt wurde und das auch in der Stärke des Erhitzens vollkommen mit der Mannose-Verbindung übereinstimmte, ergab ebenfalls eine Tritylverbindung: allerdings konnte nach dem Ausschütteln der wässerigen Suspension mit Benzol noch ungefähr 30 % nicht umgesetztes Arabinosid im Wasser colorimetrisch bestimmt werden. Die Aufarbeitung erfolgte in derselben Art wie bei der Mannoseverbindung. Nach chromatographischer Reinigung kristallisierte das Trityl-l-arabinose-2-nitro - 4,5 - dimethyl - anilid (XXIV) aus Methanol frei von Triphenylcarbinol und Nitroxylidin in reiner Form aus.

d-Ribose-2-nitro-4,5-dimenthyl-anilid (XXI, ohne Ac.) und die zweite Modifikation der entsprechenden l-Arabo-Verbindung (s. unten) wurden in derselben Weise, aber bei etwas höherer Temperatur trityliert. Dabei färbten sich die Lösungen schon etwas dunkel. Die colorimetrische Bestimmung ergab eine 88%ige Umsetzung bei der Ribose-Verbindung und eine 82 %ige bei der Arabo-Verbindung. Diese beiden Werte sind direkt vergleichbar, da die Art des Erhitzens vollkommen übereinstimmte.

Aus diesen Versuchen kann geschlossen werden, daß auch bei den Pentosen-o-nitraniliden die endständige Hydroxylgruppe frei ist und sie daher in der auf Seite 21 aufgezeichneten Form als furanoide Zucker zu formulieren sind.

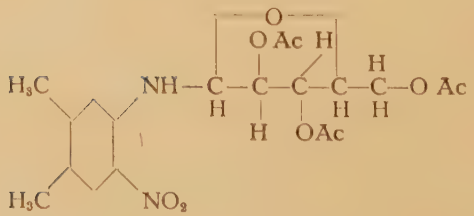
Aus der Tabelle I geht hervor, daß bei der Kondensation von 2-Nitro-4,5-dimethyl-anilid mit natürlicher l-Arabinose zwei Formen von Glucosiden erhalten werden, die sich eindeutig unterscheiden. Die bei 111° schmelzende Modifikation (gelbe Nadeln) tritt dabei zu 95 % auf. Die zweite Modifikation ließ

Tabelle I.

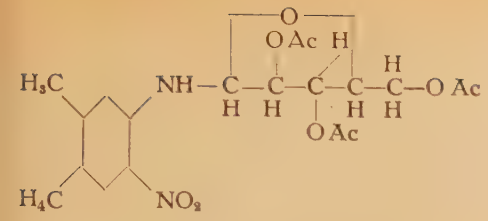
Eigenschaften der o-Nitranilin-glucoside.

o-Nitranilide der	Schmp. (k.Th.)	$[\alpha]_D^{22}$	Kristallform	Formel
Tri-acetyl-l-arabinose	151°	+ 134° M.-A.	gelbe feine Nadeln	XIX (ohne CH_3)
Tri-acetyl-d-xylose	149°	— 109° M.-A.	hellgelbe feine Nadeln	XX (ohne CH_3)
d-Glucose	70—75°	+ 26° P.	gelbe feine Nadeln	XXII (ohne Ac. u. CH_3)
Tetra-acetyl-d-glucose	184°	— 75° M.-A.	hellgelbe feine Nadeln	XXII (ohne CH_3)
2-Nitro-4,5-dimethylanilid der				
l-Arabinose I. Modifikation	112°	+ 26° P.	gelbe prismatische Nadeln	XIX (ohne Ac.)
Tri-acetyl-l-arabinose I	212°	+ 139° M.-A.	gelbe prismatische Nadeln	XIX
l-Arabinose II	186°	+ 76° P.	orange-gelbe rhombische Plättchen	XIX (ohne Ac.)
Tri-acetyl-l-arabinose II	213°	+ 142° M.-A.	gelbe prism. Nadeln	XIX
d-Arabinose	111°	— 18° P.	„ „ „	Spiegelbild v. ob.
Tri-acelyl-d-arabinose	212°	— 137° M.-A.	„ „ „	„ „ „
d-Ribose	164°	+ 90° P.	feine gelbe Nadeln	XXI (ohne Ac.)
Tri-acetyl-d-ribose Siehe Abb. S. 65	163°	— 160° M.-A.	gelbe prism. Nadeln	XXI
d-Glucose	214°	+ 11,6° P.	orangefarbige rhombische Plättchen	XXII (ohne Ac.)
Tetra-acetyl-d-glucose	ohne	— 65° M.-A.	gelbe prism. Nadeln	XXII
d-Mannose	ohne	— 42° P.	orangefarbige prismatische Nadeln	XXIII (ohne Ac.)
Tetra-acetyl-d-mannose	218°	— 94° M.-A.	gelbe prism. Nadeln	XXIII

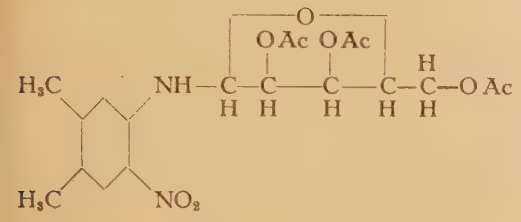
Abkürzungen: M.-A. = Methylacetat; P. = Pyridin; k.Th. = korrigiertes Thermometer.



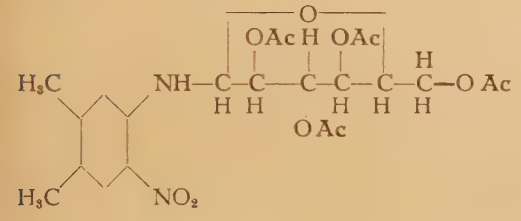
(XIX) l—Arabinose—



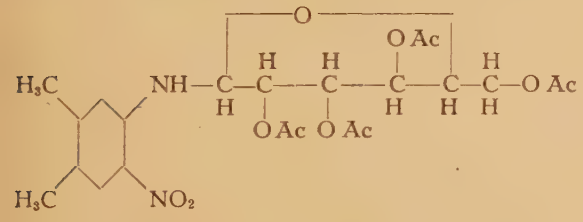
(XX) d—Xylose—



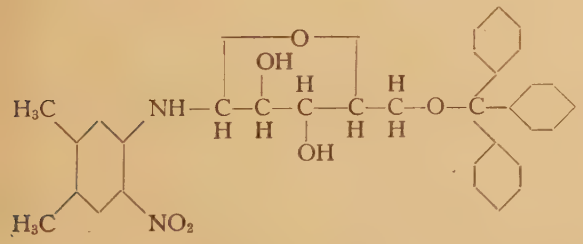
(XXI) d—Ribose—



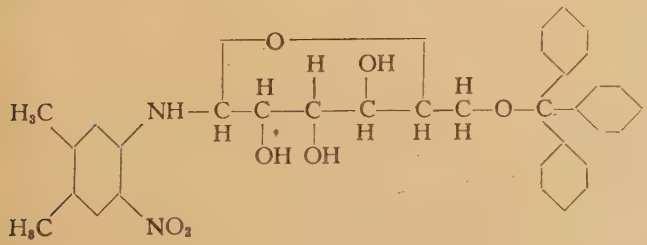
(XXII) d—Glucose—



(XXIII) d—Mannose—



(XXIV) l—Arabinose—



(XXV) d-Mannose-

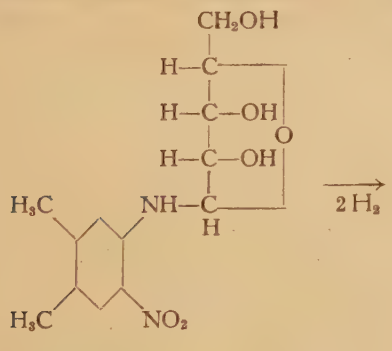
sich bei großen Ansätzen (20 g) durch ihre schwerere Löslichkeit in Alkohol (auch in Pyridin) abtrennen. Es ist möglich, daß auch bei der Kondensation von Zuckern, wie Mannose oder Ribose, neben der Hauptform noch eine zweite Modifikation in wenigen Prozenten auftritt. Sie konnte aber bis jetzt nur in dem einen besprochenen Fall nachgewiesen werden, was aber davon herrühren könnte, daß nur mit der l-Arabinose größere Ansätze (über 10 g) gemacht wurden. Beide l-Arabo-Modifikationen unterscheiden sich nur unwesentlich in der Ausbeute bei der Bildung der Trityl-Verbindung. Es ist daher anzunehmen, daß ihre Isomerie auf einer α-β-glucosidischen Form beruht. Die zweite Modifikation des l-Arabinose-2-nitro-4.5-dimethyl-anilid hat in der Kristallform und im hohen exakten Schmelzpunkt große Aehnlichkeit mit der d-Gluco-Verbindung. Man könnte daraus schließen, daß sie in der Lage des Sauerstoffringes miteinander übereinstimmen, und daß alle übrigen synthetisierten o-Nitranilin-glucoside, die alle in Nadeln kristallisieren, ebenfalls übereinstimmen.

Das l-Arabo-nitroxylidid II läßt sich ohne Veränderung umkristallisieren. Durch Behandeln mit Essigsäure-anhydrid in Pyridin kommt man aber zu demselben Produkt, wie durch Acetylierung der 1. Modifikation. Durch die Einwirkung des Pyridins und des Essigsäureanhydrids muß also eine Umlagerung stattgefunden haben.

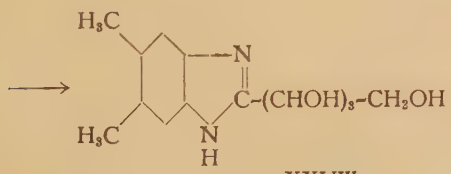
B. Synthese des Lactoflavins[12]).

Nachdem diese o-Nitranilin-glucoside, die bisher in der Literatur noch nicht beschrieben sind, auf so einfache und ergiebige Weise zugänglich waren, glaubte ich, durch Behandlung mit aktiviertem Wasserstoff zu den für die Flavinsynthese nötigen Poly-oxy-alkyl-phenylendiaminen (VI) gelangen zu können. R. Kuhn und F. Weygand[13]) konnten zeigen, daß die Nitrogruppe von Nitroxylidinabkömmlingen durch katalytisch erregten Wasserstoff quantitativ in die Aminogruppe übergeführt werden kann. Eine Hydrierung der Glucosidbindung hatte ich selbst bei den von P. Karrer[7]) zur Synthese vorgeschlagenen Zwischenprodukten mit Palladiumoxyd als Katalysator in guter Ausbeute erreichen können. Bei den o-Nitranilin-glucosiden war nun die gleichzeitige Durchführung dieser beiden Hydrierungen notwendig.

Hydrierungen, die bei einem Wasserstoffdruck bis zu 40 Atmosphären und wechselnden Temperaturen (bis zu 100° C) durchgeführt wurden, lieferten kein Produkt, das bei der anschließenden Kondensation mit Alloxan in bekannter Weise zu Flavin führte. Teilweise war Verseifung des Glucosides ein-



XXVI XXVII



XXVIII

12) Siehe R. Kuhn, K. Reinemund, F. Weygand und R. Ströbele, B. 68, 1765 (1935).

13) B. 68, 1001 (1935).

getreten, wie das Auftreten von Alloxazin zeigte, als Hauptprodukt entstand aber bei der Hydrierung ein schwer löslicher Imidazolkörper.

Bei Hydrierung in alkalischer Lösung durch Zusatz von Triäthylamin konnte dieser Ringschluß verhindert und die Flavinausbeute auf 10—20 % gebracht werden.

Als Katalysator war bei den ersten Versuchen Palladiumoxyd nach Roger Adams[13a]) benutzt worden. Um die Aktivität dieses Katalysators zu erhöhen, versuchte ich, ihn auf Trägern niederzuschlagen, was gleichzeitig eine Ersparnis an Palladium mit sich bringen sollte. Es hatte sich nämlich gezeigt, daß die Hydrierung nur zu einem einigermaßen befriedigenden Ergebnis führt, wenn man große Mengen (20 Gewichtsprozent) an Katalysator zusetzt. E. Schmidt[14]) benutzte für Hydrierung von Nitroform einen Palladiumkatalysator, der auf Bariumsulfat niedergeschlagen war. Dieser zeigte aber eine gegenüber Palladiumoxyd stark herabgeminderte Aktivität. Um einen hochaktiven Katalysator zu erhalten, ist es unbedingt notwendig, das Palladium in Form einer Verbindung niederzuschlagen, die dann erst bei der Einwirkung des Wasserstoffs zu Metall reduziert wird. Die größere Wirksamkeit wird verständlich, wenn man sich vorstellt, daß das Skelett der Palladiumverbindung bei der Reduktion erhalten bleibt und durch die Elimination z. B. von Sauerstoff aus Palladiumoxyd die wirksame Oberfläche des Metalls stark vergrößert wird.

Ein auf Calciumcarbonat niedergeschlagenes Palladiumhydroxyd, das zur Abscheidung von Hallogen sehr geeignet ist, beschreiben M. Busch und H. Stöve[15]). Mit diesem Katalysator*) machte ich nun für die Hydrierung der o-Nitranilin-glucoside sehr gute Erfahrung. Eine ähnliche Wirkung erzielt man mit Palladiumhydroxyd, das vorsichtig auf Bariumsulfat aus salzsaurer Lösung mit verdünnter Lauge niedergeschlagen wird. Da dieser Träger vollkommen indifferent ist, dürfte er sich auch bei anderen Hydrierungen bewähren, die einen hochaktiven Edelmetallkatalysator benötigen.

13a) R. L. Shriner und R. Adams, Journ. Amer. Chem. Soc. 46, 1683. Siehe auch Abderhalden, Hdb. d. biol. Arb.-Meth., Abt. I, Teil 12.

14) B. 52, 409 nach Zimmer & Co., D.R.P. 252136.

15) B. 49, 1064 nach Paal, D.R.P. Nr. 236488 und 256500 (Katalysator für Fetthydrierung).

*) Es hat sich als vorteilhaft erwiesen, dem Katalysator noch Spuren von Kupferoxyd und Zinkhydroxyd zuzusetzen.

Nickelkatalysatoren zeigten weit schlechtere Resultate. Ein Ranay-Katalysator[16]), der aus einer Aluminium-Nickel-Legierung gewonnen wird, erreicht nur etwa den 10. Teil der Leistung wie die oben besprochenen Palladiumhydroxyd-Katalysatoren (s. Tab. III S. 27). Ein von der I. G. Farbenindustrie A.-G., Ludwigshafen a. Rh., freundlicherweise zur Verfügung gestellter Nickelkatalysator, der zur Hydrierung von Glucose zu Sorbit benutzt wird, ist mit dem Ranay-Katalysator ungefähr gleichwertig. Von J. Boeseken und I. L. Leefers[17]) wird ein Misch-Katalysator aus Nickel, Kobalt und Chrom empfohlen. Ich konnte ebenso, wie genannte Autoren, eine starke Aktivitätssteigerung gegenüber dem Nickelkatalysator der I. G. Farbenindustrie bei den Hydrierungen der o-Nitranilin-glucoside feststellen. Doch betrugen die mit ihm erzielten Ausbeuten nur etwa 20 % gegenüber den Versuchen, die mit den beschriebenen Palladiumhydroxyd-Katalysatoren durchgeführt waren. Ich führe das darauf zurück, daß diese Nickelkatalysatoren ihre volle Wirksamkeit erst bei Temperaturen erreichen, die über denen liegen, die Glucose-nitranilide ohne Zersetzung aushalten können. Bei Temperaturen über 90° tritt bei ihnen unter Dunkelfärbung der Lösung Zersetzung ein.

Trotz der aktiven Katalysatoren wäre es aber nicht möglich gewesen, auf diesem Wege eine Verbesserung der Flavinausbeute gegenüber den bekannten Synthesen zu erreichen. Erst die Zugabe eines Boratpuffers führte zu dem gewünschten Ergebnis:

Bei der Untersuchung der Nitranilin-glucoside wurde festgestellt, daß sie ebenfalls wie Flavine imstande sind, mit Borsäure einen Komplex zu bilden, der sich am besten durch die Drehungsänderung nachweisen läßt. Tabelle II zeigt, daß Borsäure allein noch nicht imstande ist, die Drehung zu beeinflussen. Die Komplexbildung tritt erst ein auf Zusatz von Alkali. Bildung der Borsäure-Komplexe ist in der Literatur schon mehrfach beschrieben. Sie wurde von G. Magnanini[18]) bei Leitfähigkeitsmessungen und auch schon von Biot (1842)[19]) durch Indikatoren nachgewiesen.

---

16) S. bei L. Covert und H. Adkins, Amer. Chem. Soc. 54, 4116.
17) Rec. Trav. Chim. 54, 861 (1935).
18) G. Magnanini, G. Z. physik. Chem. 1890, 60.
19) Biot, Compt. rend. Acad. 1842, 49.

Tabelle II.

1-Arabo-2-nitro-4,5-dimethylanilid in 75% Aethanol, c = 0,5 g in 100 ccm

Zusätze in Mol		$[\alpha]_D^{20}$
$B(OH)_3$	NaOH	$\pm 10^0$
—	—	+ 33°
1	1	+ 108°
1,5	1	+ 101°
1	—	+ 33°
1	0,25	+ 125°
1	0,1	+ 75°
1	0,2	+ 117°
0,5	0,25	+ 80°

Aus der Tabelle II ist zu entnehmen, daß zu maximaler Komplexbildung ein Mol Borsäure und 0,2 Mol Natronlauge erforderlich sind.

Ich untersuchte nun, ob sich dieser Zuckerkomplex nicht leichter hydrieren läßt, als die freien Nitranilin-glucoside. Die Versuche 1 bis 8 der Tabelle III zeigen deutlich, daß für maximale Hydrierung der Zusatz von 1 Mol Borsäure und 1 Mol Natronlauge notwendig ist. Die Gesetzmäßigkeit geht sogar so weit, wie Versuch 8 und 9 zeigt, daß bei Zugabe nur der halben Menge Lauge die Ausbeute auf die Hälfte absinkt. Die Wirkung des Natriumborates wird neben der Komplexbildung wahrscheinlich noch durch die Rolle als alkalischer Puffer bestimmt sein. Freie Borsäure wird allein schon aus dem Grund, daß sie in Gegenwart von hydroxylhaltigen, zuckerähnlichen Verbindungen sauer reagiert und so eine Verseifung des o-Nitranilin-glucosides bewirkt, als Zusatz nicht in Betracht kommt.

In der Tabelle III bringe ich eine Auswahl aus den über 100 Hydrierungen, die gemacht wurden, um die Abhängigkeit der Ausbeute von den Faktoren wie Temperatur, Wasserstoffdruck, Hydrierdauer usw. zu studieren.

Sämtliche in der Tabelle variierten Bedingungen haben auf den Grad der Hydrierung einen ausschlaggebenden Einfluß. Die für die Hydrierung günstige Temperatur und der günstige Druck waren nur mit großer Schwierigkeit zu ermitteln. Es trat nämlich sowohl bei zu gelinder, wie auch bei zu starker Hydrierung als Hauptprodukt bei der Kondensation mit Alloxan Alloxazin auf. Das kann daher kommen, daß das primär ent-

Tabelle III.

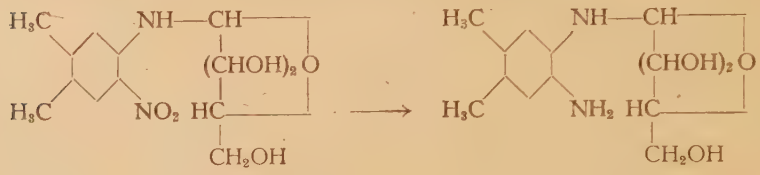
Nr.	Lösungsmittel	Konz. g in ccm	Zusätze (in Mol)	t C°	p atü	Katalysator	Hydr.dauer Stunden	Ausbeute an Flavin d. Th.
1*)	75% Äthanol	1 g in 200	2 $(C_2H_5)_3N$	25	40	1 g $Pd(OH)_2$ 2% $BaSO_4$	7	10–15%
2*)	„	„	2,5 H_3BO_3 0,9 NaOH	„	„	1 g „	„	20%
3*)	„	„	1,8 H_3BO_3 1,0 NaOH	„	„	1,2 g „	„	24%
4*)	„	„	1,2 H_3BO_3 1,2 NaOH	„	„	1,2 g „	12	35%
5	„	„	1,2 H_3BO_3 1,6 NaOH	„	„	1,5 g „	9	10%
6*)	„	„	2,0 H_3BO_3 2,0 NaOH	„	„	1,5 g „	6	30%
7*)	„	„	1,0 H_3BO_3 1,0 NaOH	„	„	5 g $Pd(OH)_2$ 4% $BaSO_4$	6	41%
8	„	„	„ „	60	„	5 g „	8	60%
9	„	„	1 H_3BO_3 0,5 NaOH	„	„	5 g „	8	30%
10	„	2 g in 200	1 H_3BO_3 1 NaOH	„	„	5 g „	8	40%
11	„	1 g in 400	„ „	„	„	5 g „	10	58%
12	100% Äthanol	1 g in 200	1 H_3BO_3 1 $(C_2H_5)_3N$	25	„	2 g „	11	2%
13	75% Äthanol	„	1 H_3BO_3 1 NaOH	60	„	20 g Ni	6	5%
14	Wasser	„	„ „	25	„	5 g $Pd(OH)_2$ $BaSO_4$	6	12%
15	75% Äthanol	„	„ „	60	„	15 g NiCoCr[17])	6	15%
16	85% Äthanol	0,5 g in 90	1,0 H_3BO_3 1,0 NaOH	80	1	$Pd(OH)_2BaSO_4$ 2 g 4%	8	39%
17	„	1 g in 200	„ „	„	40	5 g „	8	47%
18	75% Äthanol	0,5 g in 90	„ „	„	1	2 g „	17	13%
19	85% Äthanol	„	„ „	70	0	2 g „	8	37%
20	50% Äthanol	„	„ „	80	1	2 g „	8	10%
21	80% Äthanol	„	„ „	„	„	2 g +++	7 1/2	44%
22**)	„	„	„ „	„	„	2 g +++	5	30%
23+	„	„	„ „	„	„	2 g +++	8	28%
24+	„	„	ohne Zusatz	„	1	2 g +++	8	25%
25++	„	1 g in 200	1 H_3BO_3 1 NaOH	„	22	5 g +++	8	60%

*) Zu Beginn auf 80° erwärmt. **) Tropf-Hydrierung.

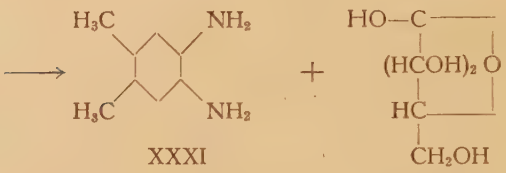
+) l-Arabo-nitranilid ++) d-Ribo-nitroxylidid.

+++) 1% $Pd(OH)_2$ · 0,05% $Zn(OH)_2$ · 0,01% $Co(OH)_2$ an $CaCo_3$.

standene Diamin-glucosid (XXX) durch den Einfluß des Katalysators vor der Hydrierung der Glucosidbindung verseift wird.

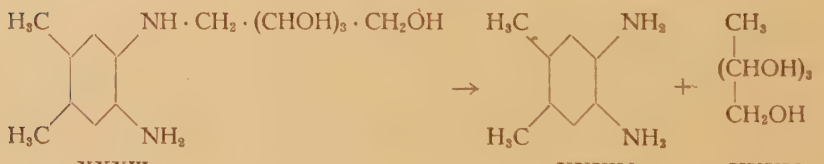


XXIX XXX



XXXI XXXII

Die o-Nitranilin-glucoside werden nun aber von Natriumborat in der zur Hydrierung angewandten Konzentration selbst in der Siedehitze nicht verseift. Es ist nicht anzunehmen, daß die Diamin-glucoside (XXX) leichter verseifbar sind. Ich möchte daher annehmen, daß auch schon fertiges N-Polyoxy-alkyl-phenylendiamin (XXXIII) hydrierend gespalten wird.



XXXIII XXXIV XXXV

Aus dem 2-Amino-4.5-dimethyl-anilin (XXXIV) entsteht dann bei der Kondensation mit Alloxan Alloxazin. Dieses läßt sich leicht nachweisen durch die starke gelbe Fluoreszenz in alkalischer Lösung, die von Flavin nur in neutralem oder schwach saurem Medium gegeben wird.

Der Versuch 8 mit 40 atü und 60° zeigt nun eine Ausbeute von 60 %. Diese wurde aber nur erreicht, nachdem sämtliche übrigen Faktoren genauestens ausgearbeitet worden waren. Als Lösungsmittel hat sich am besten 75 %iges Aethanol bewährt. Größerer oder kleinerer Wasserzusatz hat immer ein Absinken

der Ausbeute zur Folge. Die Konzentration soll nicht über 1 g in 150—200 ccm Lösungsmittel steigen.

Die Versuche wurden zum großen Teil mit einem Rührautoklaven durchgeführt. Nach längerer Benutzung trat aber an der Rührvorrichtung ein Verschleiß auf, sodaß es nicht mehr möglich war, den Inhalt des Autoklaven von dem für die Schmierung benötigten Oel freizuhalten. Durch Verschmutzung des Katalysators kam so eine gewisse Unsicherheit bei manchen Versuchen. Doch konnten die Ergebnisse nachträglich noch mit den Versuchen, die in einem Schüttelautoklaven ausgeführt wurden, verglichen werden.

Da es sich zeigte, daß sich auch schon bei einem Wasserstoffdruck von 1 Atmosphäre gute Ergebnisse erzielen lassen, wurde eine Reihe von Versuchen in einer von Skita[20]) beschriebenen Apparatur ausgeführt: diese hat gegenüber dem Autoklaven den großen Vorteil, daß auch mit kleineren Substanzmengen gearbeitet werden kann. Es war dies vor allem wichtig wichtig für die Bestimmung der optimalen Hydrierbedingungen des wertvollen 4.5-Dimethyl-o-nitranilin-ribosides, das sich als temperaturempfindlicher erwies, als die entsprechenden l-Araboverbindung, die für die Vorversuche benützt wurde.

Die durch Hydrierung in Gegenwart von Natriumborat erhaltene N-poly-oxy-alkyl-o-phenylendiamine werden nach der Vorschrift von R. Kuhn und F. Weygand[6]) mit Alloxan und Borsäure zu Flavinen kondensiert. Beim Zusammengießen der beiden Eisessiglösungen (Diamin — Alloxan) tritt eine starke braungrüne Färbung auf, die bei den früheren Flavinsynthesen nie beobachtet werden konnte. Beim Stehen über Nacht scheiden sich aus der Eisessiglösung grüne Kristalle ab. Die Mutterlauge behält ihre braungrüne Färbung. Die Kristalle lösen sich leicht in Wasser. Nach mehrtätigem Stehen hellt sich die Lösung zusehends auf und erreicht bald die charakteristische gelbe Flavinfarbe.

Das Flavin kristallisiert in den schönen orangegelben Kristallbüscheln aus. Es war offensichtlich, daß es in der Eisessiglösung zuerst in einer anderen, grünen Form vorlag. Da sich diese gegenüber den reinen Flavinen durch eine abnorme Wasser-

20) A. Skita und F. Keil, B. 61, 1452 1682 (1928); siehe auch Anmerkung 13 (Abderhalden).

löslichkeit auszeichnet, nehme ich an, daß die Zuckergruppe des Flavins noch die Borsäure gebunden hält und erst in der wässerigen Lösung langsame Verseifung eintritt. Der Uebergang der grünen Farbe der wässerigen Lösung in gelb kann durch Zugabe von Alkali und nachheriges Ansäuern beschleunigt werden. Die am Schluß dieser Arbeit beschriebenen Untersuchungen machen es nun wahrscheinlich, daß die grüne Färbung nicht allein auf einen Borsäurekomplex zurückzuführen ist, sondern auf eine reduzierte Form des Flavins, die erst durch den Luftsauerstoff langsam oxydiert wird. Da während der Kondensation mit Alloxan kein Reduktionsmittel zugegen ist, so kann nur auf der Seite des Benzolringes im Flavinkern eine Hydrierung stattgefunden haben.

Bei den eben besprochenen Hydrierungen war ich von dem l-Arabo-2-nitro-4,5-dimethyl-anilid ausgegangen. Bei Versuchen mit dem l-Arabo-2-nitro-anilid trat überraschenderweise durch Natriumboratzusatz kein Einfluß auf den Grad der Hydrierung ein. Die Ausbeuten waren bei sonst gleichen Bedingungen mit und ohne Zusatz ungefähr 30 % d. Th.

Der Einfluß einer Tropfhydrierung, wie er von F. Weygand[21]) für die Hydrierung der Zuckeroxime zu Zuckeraminen mit gutem Erfolg untersucht worden war, führte bei diesen Hydrierungen zu keiner Verbesserung. Die Ausbeuten waren bei langsamen Zutropfen (0,5 g Substanz in 100 ccm Lösungsmittel während 6 Stdn.) um ungefähr 20 % schlechter. Es ist dies ein Beweis, daß die nur 60 %ige Ausbeute bei den früheren Hydrierungen nicht durch Nebenreaktion verursacht worden sind, die intermolekular sind, wie z. B. bei der Hydrierung der Zuckeroxime zu Aminen, sondern intramolekularer Art; darauf kann aber auch diese Vorsichtsmaßregel des langsamen Zutropfens zu einem Ueberschuß von Katalysator keinen Einfluß haben.

Auch ein Erneuern des Katalysators während der Hydrierung konnte keine Verbesserung der früher erzielten Ausbeuten erreichen. Es war wohl möglich, unter etwas gelinderen Temperaturbedingungen denselben Grad der Hydrierung zu erreichen, ohne aber die Ausbeute an sich zu verbessern.

Statt mit katalytisch erregtem Wasserstoff mußte es auch möglich sein, mit Metallen wie Natrium oder Aluminium in Form ihrer Amalgame die Nitranilin-glucoside zu den ent-

21) Dissertation, Frankfurt a. M., 1936.

sprechenden Diaminen zu reduzieren. Durch Kochen in alkoholisch-wässeriger Lösung mit Aluminium, das durch Quecksilbercyanid aktiviert war, erhielt ich ein Produkt, das bei der anschließenden Kondensation mit Alloxan zu Flavin führte. Trotz weitgehender Variation der Versuchsbedingungen war es aber nicht möglich, Ausbeuten von über 10 % zu erreichen. Von dem Kaiser-Wilhelm-Institut für Metallforschung in Stuttgart wurde mir freundlicherweise ein Aluminium zur Verfügung gestellt mit einem sehr hohen Reinheitsgrad (die Verunreinigungen waren unter 0,1 %). Aber auch mit diesem reinen Metall, bei dem eine Vergiftung durch Begleitstoffe unmöglich war, konnte keine Verbesserung erzielt werden. Die Reduktion mit Aluminium hat außerdem den Nachteil, daß sich große Mengen Aluminiumhydroxyd in der Lösung bilden, die erst nach längerem Auswaschen das eingeschlossene Reaktionsprodukt wieder freigeben.

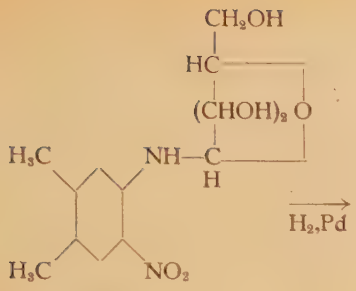
Nachdem so durch kein anderes Verfahren die Synthese von N-Poly-oxy-alkyl-phenylendiaminen mit einer auch nur annähernd guten Ausbeute, wie durch Hydrierung von o-Nitranilin-glucosid mit Natriumboratzusatz bei Drucken zwischen 20 und 40 Atm. und Temperaturen zwischen 50—80° durchgeführt werden konnte, ging ich dazu über, nach diesem Verfahren das in größeren Mengen hergestellte d-Ribose-2-nitro-4,5-dimethyl-anilid (es waren ungefähr 20 g) in Lactoflavin überzuführen. Die Abänderungen des Verfahrens waren nicht prinzipieller Natur. Es hatte sich nur als günstig erwiesen, die Hydrierung zuerst einige Zeit bei Zimmertemperatur durchzuführen und erst allmählich auf 80° zu erwärmen. Ueberraschenderweise kristallisiert das Lactoflavin nicht wie die entsprechende l-Araboverbindung nach der Kondensation mit Alloxan aus dem Eisessig in grüner Farbe aus, sondern in den bekannten gelben Nadeln. Das auskristallisierende Rohprodukt hat schon einen Reinheitsgrad von 90 % und kann durch Extraktion mit Alkohol leicht in analysenreiner Form gewonnen werden. Die Ausbeuten waren durchschnittlich 720 mg Flavin aus 1 g Ribose-dimethyl-nitranilid. Nach diesem Verfahren stellte ich ungefähr 10 g Lactoflavin dar, eine Menge, für die früher 50 000 Liter Milch hätten verarbeitet werden müssen. Falls es noch gelingt, die Ribose auf einem einfacheren und ergiebigeren Wege, als es bis jetzt der Fall ist, zugänglich zu machen, wird

es möglich sein, auch das Vitamin B_2 in jeder geforderten Menge herzustellen.

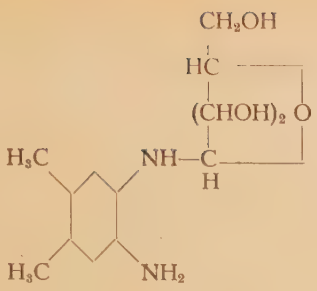
C. Synthese von Flavin-glucosiden.

Da die Hydrierung von o-Nitranilin-glucosiden zu Beginn der Untersuchungen nur in schlechter Ausbeute zu den für die Flavinsynthese notwendigen Diaminen VI führte, versuchte ich die acetylierten o-Nitranilin-glucoside als Ausgangsmaterial zu benutzen. Es versprach das einen Erfolg, da hierzu Lösungsmittel wie Eisessig und besonders Methylessigester benutzt werden konnten, die sich bei der Hydrierung von Carotinoiden als sehr günstig gezeigt hatten. Durch Hydrierung mit Palladiumoxyd in Essigester erhielt ich ein Produkt, das bei der Kondensation mit Alloxan in guter Ausbeute zu einem gelben, stark grün fluoreszierenden Farbstoff führte. Ueberraschenderweise hatte dieser Körper aber ganz andere Eigenschaften als die bisher bekannten Flavine. Während das in der Natur vorkommende Lactoflavin außerordentlich säurebeständig ist — es wird mit 20 %iger Salzsäure bei 100° selbst in mehreren Stunden nicht zerstört —, zeichnet sich das von mir synthetisierte flavinähnliche Produkt durch eine außerordentliche Säureempfindlichkeit aus. Normale Essigsäure verseift schon in wenigen Minuten bei Zimmertemperatur. Auffällig waren auch die außerordentlich hohen Drehungswerte (bis zu 600°), die bei diesem Produkt gemessen werden konnten. Die Isolierung des Flavins aus der Eisessiglösung nach der Kondensation mit Alloxan war mit großen Schwierigkeiten verbunden. Abdampfen des Eisessigs im Vakuum führte zu Dunkelfärbung und starker Zersetzung. Der einzige Weg zur Isolierung war das Ausschütteln der mit Wasser verdünnten Lösung mit Chloroform. Diese Operation mußte möglichst schnell durchgeführt und die Lösung dann sofort mit Natriumbicarbonat nachgewaschen werden. Eine teilweise Verseifung des Flavins durch die Essigsäure ist dabei nicht zu vermeiden.

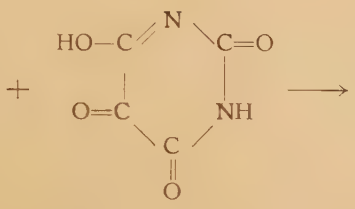
Die leichte Verseifbarkeit und die hohen Drehungswerte ließen darauf schließen, daß ich ein glucosidisches Flavin in Händen hatte. Es war dies dadurch möglich, daß bei der Hydrierung nur die Nitrogruppe und nicht auch die glucosidische Bindung reduziert worden war.



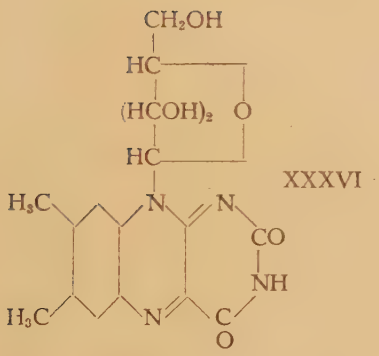
XXIX



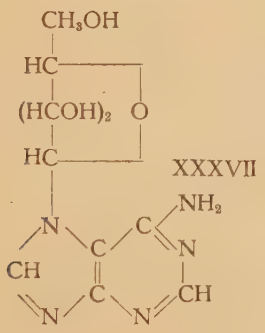
XXX



VII



XXXVI

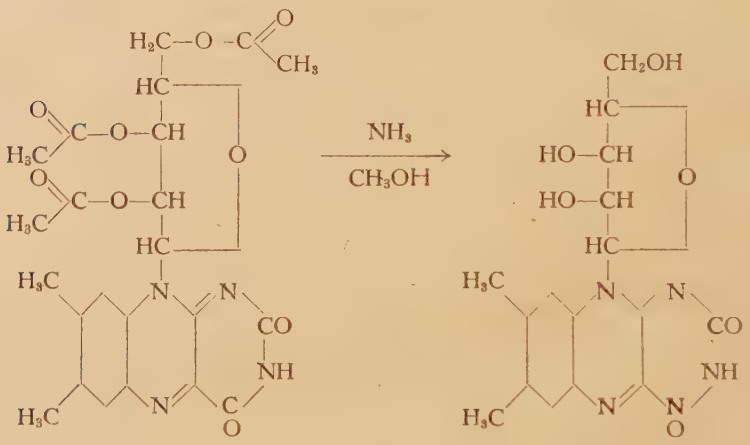


XXXVII

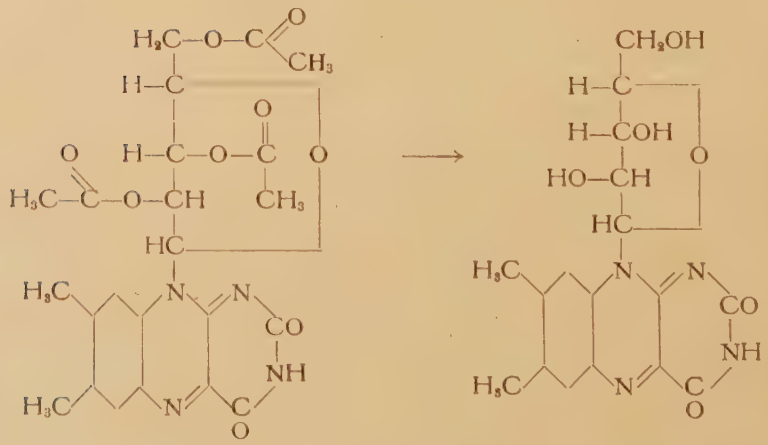
So war auf synthetischem Wege eine den Nucleosiden (zum Vergleich Adenosin, Formel XXXVII) verwandte Verbindung erhalten worden, bei der der Purin- bzw. Pyrimidinkern durch ein 6,7-Dimethylflavin ersetzt ist. Schon bei der Konstitutionsaufklärung des Lactoflavins war die Frage aufgetaucht, in welcher Art die Pentitgruppe an den Stickstoff gebunden ist. In Analogie zu den bekannten Naturprodukten wäre eine glucosidische Bindung sehr verständlich. Doch konnte durch die Säurebeständigkeit und die bei der Alkalispaltung auftretenden Abbauprodukte diese Bindungsart ausgeschlossen werden. Nicht von der Hand

zu weisen ist jedoch die Annahme, daß das Lactoflavin in der Zelle über dieses synthetisierte Ribosidoflavin gebildet wird.

Ob diese Verbindung nun in irgendeiner Weise biologisch wirksam ist, wurde geprüft. Da bei der Synthese die Triacetylverbindung des Ribosido-flavins entsteht, mußte wegen der Säure- und Alkaliempfindlichkeit nach einer möglichst milden Art der Verseifung gegriffen werden.



XXXVIII XXXIX



XL XLI

Ammoniakalischer Methylalkohol wird von E. Fischer[22]) zur Abspaltung von Acetylgruppen am Theobromin-glucosid benutzt. Dieses Reagenz ist nun imstande, auch die Acetylgruppe des Flavinglucosides zu verseifen, ohne auch gleichzeitig die Zuckergruppe abzuspalten. So gelangte ich zu dem 6,7-Dimethyl-9-d-ribosido-isoalloxazin (XXXIX), das keinen definierten Schmelzpunkt, aber eine charakteristische Drehung von + 470° in Pyridin hat (Lactoflavin in Pyridin $[\alpha]_D^{20} = -30^0 \pm 10^0$). Die Kristallform ist aus Abbildung 4 ersichtlich. Wie an der isomeren l-Araboverbindung gezeigt wird, zeichnet es sich durch eine noch stärkere Lichtempfindlichkeit als Lactoflavin aus (siehe Kurven der Photolyse Abb. 2 S. 64). Fütterungsversuche wurden nach der beim Lactoflavin angewandten Bourquin-Sherman-Diät[23]) durchgeführt. Bei peroraler Zufuhr war keine Wirksamkeit zu erwarten, da das Ribosidoflavin sicher von der Salzsäure des Magens verseift wird, aber auch bei parenteraler Zufuhr konnte keine dem Lactoflavin ähnliche Wirkung erzielt werden.

In neuester Zeit wurde das 6,7-Dimethyl-d-ribosido-flavin von R. Kuhn und H. Rudy[24]) auf seine Wirksamkeit im Fermentversuch geprüft. Lactoflavin wird im Organismus mit Phosphorsäure verestert. Dieses „Cytoflav" reagiert mit einem spezifischen Eiweißkörper unter Bildung des gelben Ferments. R. Kuhn und H. Rudy[24]) fanden nun, daß auch Lactoflavin allein imstande ist, mit dem Eiweißkörper zu kuppeln und die Rolle des gelben Fermentes zu übernehmen. Da nun auch das Ribosido-flavin die charakteristische Eigenschaft des Lactoflavins zeigt, mit aktiviertem Wasserstoff reversibel reduzierbar zu sein, so wäre seine Rolle als prosthetische Gruppe des gelben Ferments verständlich. Der Fermentversuch zeigt jedoch, daß es hierzu nicht imstande ist. Die Spezifität des Lactoflavins ist also, was die Bindungsart der Pentosenseitenkette anbelangt, gewahrt, obgleich sie durch das wirksame 6,7-Dimethyl-9-l-arabo flavin und das 6-Methyl-9-d-ribo-flavin schon zweimal durchbrochen war.

---

22) E. Fischer, Untersuchungen über Kohlehydrate und Fermente II., S. 149.

23) P. György, F. W. van Klaveren, R. Kuhn und Th. Wagner-Jauregg, Z. f. physiol. Chem. 223, 236 (1934).

24) B. 69, 2557 (1936).

D. Synthese von Flavinradikalen.

Bei der Synthese von 6,7-Dimethyl-9-l-araboflavin aus dem hydrierten o-Nitroxylidin-l-arabinosid (s. S. 19) fällt der sonst gelbe Farbstoff in einer grünen Form aus, die erst durch den Luftsauerstoff in alkalischer Lösung in gelbes Flavin übergeht. L. Michaelis und Mitarbeiter[25]) berichten, daß sie durch Reduktion von Flavinen mit Natriumhyposulfit bei p_H 4—8 eine grüne Färbung beobachten konnten. Sie nehmen an, daß dieses reduzierte Flavin ein Radikal (Semichinon) darstellt.

Da es sehr wahrscheinlich war, daß das von mir beobachtete grüne Flavin mit dem von Michaelis identisch ist, versuchte ich es in kristallisiertem Zustand zu gewinnen. Durch magnetische Messungen mußte es dann leicht möglich sein, zu entscheiden, ob man es wirklich mit einem Radikal zu tun hat oder etwa mit einem Chinhydron. Es gelang mir, aus 6,7-Dimethyl-9-l-araboflavin durch Reduktion mit Natriumhyposulfit oder mit katalytisch erregtem Wasserstoff in 0.1 n NaOH bei hoher Konzentration (200 mg in 5 ccm) ein grünes kristallisiertes Produkt zu erhalten, das im folgenden als Verdoflavin bezeichnet werden soll. Wie die Natriumbestimmung ergab, enthält es 1 Na auf 2 Moleküle Flavin. Es löst sich im Gegensatz zum Natriumsalz des Lactoflavins in der Kälte nur schlecht in Wasser, in der Wärme aber sehr gut. Beim Umkristallisieren aus Wasser fällt es beim Abkühlen fast quantitativ in schönen, bronzierenden, olivgrünen Kristallen aus. Unter dem Mikroskop erkennt man grüne Nadeln, die sich vom Lactoflavin nur durch ihre grüne Farbe unterscheiden. Die Verbindung ist in alkalischer Lösung sehr luftempfindlich. Auch in festem Zustand oxydiert der Luftsauerstoff allmählich zu gelbem Flavin. Die heiße wässerige Lösung ist nicht grün, sondern hat einen mehr braunen Ton.

Um die Reduktionsstufe des Verdo-flavins zu ermitteln, wurde der Sauerstoffverbrauch bei der Rückbildung des Flavins gemessen. Diese Versuche*) ließen sich am besten in der Barcroft-Warburg-Apparatur durchführen. Die Substanz wurde unter Stickstoff eingewogen, das Gefäß dann mit Sauerstoff gefüllt,

25) Science, Aug. 7. 1936, Vol. 84, Nr. 2171 Pg. 138/139.

*) Die Versuche wurden am hiesigen Institut von Herrn H. W. Rzeppa ausgeführt.

kurz bei 25° im Thermostaten geschüttelt und darauf in n/10 Natronlauge gekippt. Wie man am Absinken der Manometerflüssigkeit sieht, wird der Sauerstoff augenblicklich verbraucht. Die Lösung nimmt die gelbe Farbe des Flavins in alkalischer Lösung an.

Wenn das Verdo-flavin ein Chinhydron wäre, so müßte bei der Rückbildung von 2 Molen Flavin ½ Mol Sauerstoff verbraucht werden:

(ohne Zusätze)

$$C_{17}H_{19}N_4O_6Na \cdot C_{17}H_{22}N_4O_6 + \frac{O_2}{2} = C_{17}H_{19}N_4O_6Na + C_{17}H_{20}N_4O_6 + H_2O$$

Die Substanz verbrauchte 0.509 Mole. Die Uebereinstimmung schien also sehr gut. Nach der Wieland'schen Dehydrierungstheorie sollte man aber erwarten, daß der Wasserstoff des Verdoflavins auf den molekularen Sauerstoff als Substrat übertragen wird unter Bildung von Wasserstoffsuperoxyd. Falls dieses nicht zersetzt wird, sollte das Verdoflavin die doppelte Menge Sauerstoff verbrauchen, als es wirklich verbraucht hat. Das Auftreten von Wasserstoffsuperoxyd ließ sich nun in der Tat beweisen dadurch, daß das Verdoflavin im einen Falle in Gegenwart von Wasserstoffsuperoxyd zersetzenden Metallen (z. B. Platin), im anderen Falle in Gegenwart von Cyankali oxydiert wurde. Die Oxydation geht also ohne Platin in folgender Form vor sich:

H_2O_2-Zerfall durch KCN gehemmt:

$$2C_{17}H_{20}N_4O_6 \cdot 2C_{17}H_{20}N_4O_6Na + O_2 = 2C_{17}H_{20}N_4O_6 \cdot 2C_{17}H_{19}N_4O_6Na + H_2O_2$$

Verdoflavin sollte zur Rückbildung von 1 Mol Flavin verbrauchen: 0,250 Mole O_2. Es verbrauchte nach 10 Minuten 0,244 Mole O_2.

H_2O_2 zersetzt durch Platin:

$$2C_{17}H_{20}N_4O_6 \cdot 2C_{17}H_{20}N_4O_6\,Na + \frac{O_2}{2} = 2C_{17}H_{20}N_4O_6 \cdot 2C_{17}H_{19}N_4O_6Na + H_2O$$

Verdoflavin sollte zur Rückbildung von 1 Mol Flavin verbrauchen: 0,125 Mole O_2. Es verbrauchte nach 10 Minuten 0,127 Mole O_2.

Der Versuch II stimmt im Sauerstoffverbrauch mit Versuch I überein. Es wird also auch ohne Cyankali kein Wasserstoffsuperoxyd zerstört.

Aus der Summengleichung geht hervor, daß bei der Rückbildung von 1 Mol Flavin aus Verdoflavin in Gegenwart von Platin — d. h. ohne Auftreten von Wasserstoffsuperoxyd — nur $^1/_8$ Mol Sauerstoff verbraucht wird. Wenn man eine chinhydronartige Konstitution des Verdoflavins annimmt, so treffen also auf 1 Leukoflavin 3 Flavinmoleküle.

Die Frage, ob das Verdoflavin ein Chinhydron mit gerader Anzahl von Elektronen ist oder aber ein Radikal, konnte durch die magnetische Messung entschieden werden. Verbindungen mit ungerader Anzahl von Elektronen im Molekül sind paramagnetisch. Die Theorie erfordert für 1 freies Elektron eine Susceptibilität [26] von $X = +1250 \cdot 10 \cdot {}^{-6}$.

Herr Dr. Eugen Müller, Danzig, der freundlicherweise die Prüfung der Substanz übernahm, fand bei einem angenommenen Molekulargewicht von 388,2 ($C_{17}H_{20,5}N_4O_8Na^1/_2$) einen Wert von ungefähr $X = +500.10^{-6}$. Rein qualitativ trifft also auf 2 Moleküle Flavin 1 freies Elektron.

Es war noch zu untersuchen, ob das Verdoflavin sich in die von R. Kuhn und Th. Wagner-Jauregg [27] beobachtete rote Zwischenstufe, die bei der Reduktion von Flavinen in saurer Lösung auftritt, überführen läßt. Uebergießt man Verdoflavin mit konz. Salzsäure, so geht es mit dunkelroter Farbe in Lösung. Zum Vergleich der beiden Formen bringe ich das mit dem Gitterspektroskop erhaltene Spektrum:

Verdoflavin (aus Lactoflavin in H_2O gelöst)

Rhodoflavin (aus l-Araboflavin in konz. HCl)

Dieses „Rhodoflavin“ *) in kristallisiertem Zustand zu isolieren, gelang aber erst, nachdem das 6.7-Dimethyl-l-araboflavin in alkalischer Lösung soweit hydriert worden war, daß der anfängliche Niederschlag von Verdoflavin wieder in Lösung ging.

26) Siehe Zusammenfassung: Magnetochemie, W. Klemm, 1936, Akadem. Verlagsges. Leipzig.

27) B. 67, 361 (1934).

*) Siehe Abbildung 5 S. 65.

Versetzt man die so erhaltene schwach gelbe Lösung mit konz. Salzsäure und verdünnt dann mit derselben Menge Wasser, so erhält man das Rhodoflavin in schönen karmoisinroten Nadeln, die sich vom Lactoflavin nur durch ihre Farbe unterscheiden. Die Chlorbestimmung ergab, daß das Rhodoflavin ein Chlorid (1 Cl auf C_{17}) darstellt.

Die Substanz verbraucht beim Uebergang in 1 Flavin in Abwesenheit von Wasserstoffsuperoxyd zersetzenden Metallen 1,5 O-Atome. Sie ist also aufzufassen, entweder als Molekülverbindung (Chinhydron) von 3 Leukoflavin + 1 Flavin oder als Molekülverbindung von 1 Leukoflavin + 1 Monohydroflavin (Radikal).

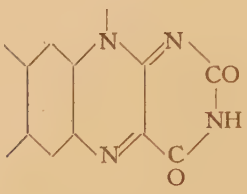
Falls sich die letztgenannte Formulierung als richtig erweisen sollte, müßte die Untersuchung im Magnetfeld für Rhodoflavin ebenfalls eine Susceptibilität von $X = +600.10^{-6}$ ergeben.

Behandelt man das Rhodoflavin mit Wasser unter Ausschluß von Sauerstoff, so erleidet es Hydrolyse, die an einem Farbumschlag der roten Nadeln in Braun zu erkennen ist. Dieses braune Flavin stellt sehr wahrscheinlich die freie Base des Rhodoflavins dar. Sie wird auf derselben Reduktionsstufe stehen wie das Rhodoflavin. Die Isolierung dieser Verbindung ist nur bei vollkommenem Ausschluß von Sauerstoff möglich. Beim Zutritt von Luft geht die braune Base in ein neues grünes Flavin über, das im folgenden als Chloro-flavin bezeichnet wird.

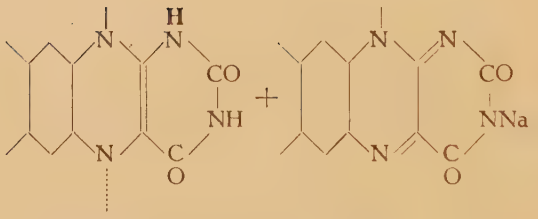
Das Chloro-flavin unterscheidet sich weitgehend von dem oben beschriebenen, gleichfalls grünen Verdoflavin. Wie der Sauerstoffverbrauch beim Uebergang in Flavin zeigt, wird pro C_{17} 1 Gramm-Atom Sauerstoff verbraucht. Die Chlorbestimmung ergab nur unwägbare Spuren Silberchlorid. Die magnetochemische Untersuchung ist noch im Gange. Es ist wahrscheinlich, daß das Chloroflavin pro C_{17} 1 freies Elektron besitzt. Im Vergleich zum Verdoflavin zeichnet es sich durch eine ziemliche Beständigkeit gegen Sauerstoff aus. In einer wässerigen Aufschlämmung wird es beim Stehen erst in Tagen zu Flavin dehydriert. Auch beim Erhitzen zeigt es eine große Beständigkeit. Es kann bis nahe an seinen Schmelzpunkt von 288° (k. Th.) erhitzt werden, ohne daß die grüne Farbe verschwindet, auch bei Gegenwart von Luftsauerstoff.

Löst man Verdoflavin in konz. Salzsäure und gibt dann die 5fache Menge Wasser zu, so erhält man ebenfalls das Chloroflavin in schönen grünen Nadeln. Dabei muß eine Disproportionierung stattgefunden haben.

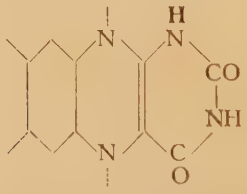
Ich bringe anschließend die zur Zeit wahrscheinlichsten Formeln für die verschiedenen Reduktionsstufen der Flavine, die

	Brutto-formel	O_2-Verbrauch bei Rückbildung von 1 Flavin
	$C_{17}H_{20}N_4O_6$	0,00

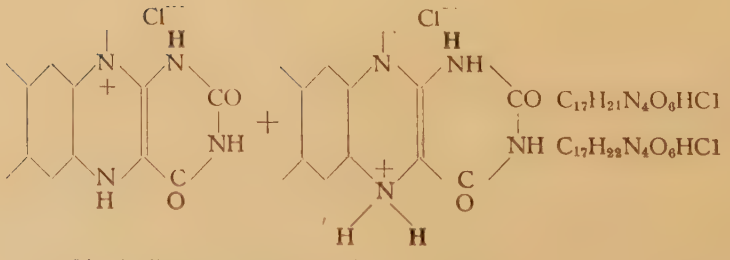
Flavin, gelb

	$C_{17}H_{21}N_4O_6$ $C_{17}H_{19}N_4O_6Na$	0,25

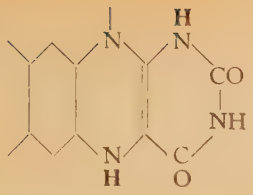
Verdo-flavin, broncierend grün XLII

	$C_{17}H_{21}N_4O_6$	0,50

Chloro-flavin, grasgrün XLIII

	$C_{17}H_{21}N_4O_6HCl$ $C_{17}H_{22}N_4O_6HCl$	0,75

Rhodo-flavin, karmoisinrot XLIV



Leuko-flavin, weiß

$C_{17}H_{22}N_4O_6$ 1,00

ich in kristallisierter Form isolieren konnte. Die Formulierung des Chloroflavins mit 2wertigen Stickstoff in 10-Stellung ist willkürlich. Erst weitere Untersuchungen können entscheiden, an welchem Atom das ungepaarte Elektron seinen Sitz hat.

Das Chloroflavin nimmt zwischen Flavin und Leukoflavin eine zentrale Stellung ein. Es ist eine gegenüber Luftsauerstoff verhältnismäßig stabile reduzierte Flavinform. Das Verdoflavin dagegen, das eine Molekülverbindung aus 1 Chloroflavinnatrium und 1 Flavin darstellt, wird von molekularem Sauerstoff augenblicklich dehydriert. Rhodoflavin ist das Chlorsalz einer Molekülverbindung aus 1 Chloroflavin und 1 Leukoflavin. Die freie Base ist braun und ebenfalls wie Verdoflavin stark sauerstoffempfindlich.

Für die Darstellung der Flavinradikale war in allen eben beschriebenen Fällen das 6,7-Dimethyl-l-araboflavin als Ausgangsmaterial benutzt worden. Versuche mit der d-Ribose-Verbindung zeigten, daß es sich bei Reduktion vollkommen gleich verhält. Nur zeichnen sich die entsprechenden Verbindungen durch eine weit größere Löslichkeit aus, so daß es notwendig ist, mit weit konzentrierteren Lösungen zu arbeiten, wenn man die Radikale in kristallisiertem Zustand gewinnen will. Prinzipielle Unterschiede bestehen jedoch nicht. Man kann daher die hier gefundenen Zusammenhänge auch auf das in der Natur vorkommende Lactoflavin und weiter auch auf die Wirksamkeit des gelben Fermentes anwenden.

Es ist in diesem Zusammenhang bemerkenswert, daß F. Weygand am hiesigen Institut bei der Isolierung von gelbem Ferment aus Hefe verschiedentlich grüne Chromoproteide erhielt, die ihre Farbe tagelang behielten und erst allmählich an der Luft wieder gelb wurden.

Experimenteller Teil.

Chromatographische Reinigung von o-Nitranilin und 4,5-Dimethyl-o-nitranilin.

Technisches Nitranilin (Nitroxylidin) wird zunächst einmal aus Benzol umkristallisiert. Nach dem Abfiltrieren wird in Benzol gelöst (50 g in 300 ccm) und heiß durch eine Säule von Aluminiumoxyd (5 cm lang, 5 cm Durchmesser) filtriert. Das Chromatogrammrohr ist von einem Mantel mit heißem Wasser (70°) umgeben, das ein vorzeitiges Auskristallisieren des Nitranilins verhindert. In der obersten Schicht bleiben braune Verunreinigungen haften. Die durchgelaufene Lösung läßt man abkühlen, wobei sich das Nitranilin in schönen rot-gelben Nadeln abscheidet.

Schmelzpunkt des o-Nitranilins 72° (k. Th.).

Schmelzpunkt des 4,5-Dimethyl-o-nitranilins 140° (k. Th.).

2. d-Arabinose-2-nitro-4,5-dimethylanilid (Spiegelbild von 4).

5 g reine d-Arabinose und 25 g 2-Nitro-4,5-dimethyl-anilin werden mit 0,5 g Ammonchlorid in 120 ccm absol. Alkohol im siedenden Wasserbad unter Rückfluß kräftig 2 Stunden gekocht, wobei alles in Lösung geht*). Die rote Lösung wird mit 100 ccm heißem absol. Alkohol verdünnt und noch heiß durch eine Säule von Aluminiumoxyd (30 cm Länge, 5 cm Durchmesser) filtriert. Um ein vorzeitiges Auskristallisieren des im Ueberschuß angewandten Nitroxylidins zu verhindern, befindet sich die Säule von Aluminiumoxyd in einem doppelwandigen Chromatogrammrohr, dessen Mantel mit Wasser von etwa 75° beschickt wird. Das gebildete Nitroxylidin-arabinosid wird adsorbiert, während das unveränderte Nitroxylidin durchläuft und sofort auskristallisiert. Man wäscht solange mit Alkohol nach, bis der Alkohol farblos abläuft. Die breite gelbe Zone des Chromatogramms eluiert man mit einem Gemisch von 2 Teilen reinstem Methanol, 1 Teil

*) Die Aufarbeitung kann auch nach der Art, wie unter 4) und 9) beschrieben, erfolgen.

reinstem Pyridin und 1 Teil Wasser und verdampft die Elution im Vakuum zur Trockne. Um alles Pyridin zu vertreiben, wird zweimal mit 10 ccm absol. Alkohol aufgenommen und wieder im Vakuum zur Trockne gebracht. Den Rückstand kristallisiert man aus 200 ccm absol. Alkohol um, den man, wenn alles in Lösung ist, auf 100 ccm einengt, wobei 80 % d. Th., 8,0 g, d-Arabinose-2-nitro-4.5-dimenthyl-anilid in langen citronengelben Nadeln erhalten werden.

Aus Wasser kristallisiert die Substanz in orangegelben, konzentrisch gruppierten Prismen, deren Schmp. zu 166° (k. Th.) angegeben wurde. Dieser Schmp. ist jedoch nicht charakteristisch und kann je nach der Art der Kristallisation auch tiefer liegen, z. B. durch Umkristallisieren aus Wasser von 166° auf 150° heruntergehen. Es ist möglich, daß diese Erscheinung mit einer α,β-Umlagerung des Arabinosids zusammenhängt und wahrscheinlich, daß überdies die Bindung von Kristallwasser den Schmp. von der Art des Erhitzens stark abhängig macht. Die Nitroxylidin-pentoside sind außerordentlich leicht hydrolysierbar, und man muß damit rechnen, daß die kristallwasserhaltigen Präparate beim Erhitzen durch ihr Kristallwasser Hydrolyse erleiden. Aus Alkohol kristallisierte Präparate enthalten ebenfalls Kristallwasser und zeigen einen charakteristischen Sinterungspunkt bei 111° (k. Th.), wobei die citronengelbe Farbe nach Rot umschlägt (Zersetzung).

Trocknet man bei 65° und 1 mm 2 Stunden lang über Phosphorpentoxyd, so enthält die Substanz annähernd noch 1 H_2O.

4,022 mg Sbst.: 7,395 mg CO_2. 2,285 mg H_2O.
3,523 mg Sbst.: 0,272 ccm N_2 (750 mm; 26°).
$C_{13}H_{18}N_2O_6 . H_2O$ Ber. C 49,34 H 6,38 N 8,85.
(316,2) Gef. C 50,04 H 6,45 N 8,70.

Trocknet man die aus Wasser kristallisierte Substanz bei 100° und 1 mm 3 Stunden über P_2O_5, so wird sie wasserfrei erhalten.

4,362 mg Sbst.: 2,38 mg H_2O, 8,41 mg CO_2.
3,946 mg Sbst.: 0,334 ccm N_2 (754 mm; 23°).
$C_{13}H_{18}N_2O_6$ Ber. C 52,35 H 6,07 N 9,40.
(298,2) Gef. C 52,58 H 6,11 N 9,68.

Die orangegelbe wässerige Lösung gibt an Benzol keine Spur Farbstoff (Nitroxylidin) ab. Diese Phasenprobe dient zur Prüfung auf die Unversehrtheit des Glycosids.

$$[\alpha]_D^{20} = (-0{,}08^0 \times 100) : (0{,}200 \times 2) = -20{,}0 \pm 3^0 \text{ (Pyridin).}$$

3. Triacetyl-d-arabinose-2-nitro-4,5-dimethyl-anilid.

6,0 g d-Arabinose-2-nitro-4,5-dimethyl-anilid werden in 150 ccm trockenem Pyridin gelöst und mit 30 ccm Essigsäureanhydrid p. a. versetzt. Nach 12stündigem Stehen (15—20°) wird eben zum Sieden erhitzt, abgekühlt, mit 50 ccm absol. Alkohol versetzt und im Vakuum verdampft. Den Rückstand nimmt man in Alkohol auf und verdampft wieder zur Trockne, dann wird aus absol. Alkohol umkristallisiert. Man erhält so in nahezu berechneter Ausbeute (8,0 g) das Triacetyl-d-arabinose-2-nitro-4,5-dimethyl-anilid in hellgelben gekreuzten Stäbchen, die bei 212° (k. Th.) schmelzen. Die Substanz ist löslich in Aether, Chloroform, Essigester und Benzol, praktisch unlöslich in Wasser.

4,485 mg Sbst.: 2,30 mg H_2O, 8,87 mg CO_2. — 3,545 mg. Sbst.: 0,205 ccm N_2 (759 mm, 20°).

$C_{19}H_{24}N_2O_9$ Ber. C 53,75 H 5,70 N 6,60.
(424,2) Gef. C 53,94 H 5,74 N 6,73.

$[\alpha]_D^{20} = (-0{,}33^0_5 \times 100) : (0{,}122 \times 2) = -137^0 \pm 5^0 (H_3C \cdot COOCH_3)$.

4. l-Arabinose-2-nitro-4,5-dimethyl-anilid (XIX ohne Acetyl).

10 g l-Arabinose werden mit 11 g Nitroxylidin und 1 g Ammonchlorid in 160 ccm absol. Aethanol bis zur vollständigen Lösung am Rückfluß zum Sieden erhitzt (ungefähr 1½ Stdn.). Anschließend wird noch eine weitere halbe Stunde gekocht. Man dampft im Vakuum zur Trockne, versetzt mit 150 ccm Benzol und erhitzt zum Sieden, wobei das nicht umgesetzte Nitroxylidin in Lösung geht. Das Kondensationsprodukt, das an seiner helleren Farbe zu erkennen ist, bleibt teilweise ungelöst; die Hauptmenge scheidet sich beim Abkühlen der Lösung beinahe quantitativ aus. Man läßt nach dem Abkühlen nicht zu lange stehen, filtriert ab und wäscht mit warmem Benzol gut nach. Darauf behandelt man den Rückstand mit wenig kaltem Wasser und löst so aus dem Kondensationsprodukt die mitausgeschiedene Arabinose heraus. Man filtriert ab und erhält so das gewünschte Anilid in schönen hellgelben Kristallen (Ausbeute ungefähr 11 g). Die Benzollösung des nicht umgesetzten Nitroxylidin von oben wird zur Trockene gedampft,

ebenso die wässerige Lösung des Zuckers. Die beiden Rückstände werden nochmals in Alkohol zur Kondensation gebracht und in gleicher Weise aufgearbeitet. Dabei erhält man nochmals 5 g Kondensationsprodukt: so erzielt man bei zweimaligem Erhitzen eine 80%ige Umsetzung des Zuckers. Das Nitroxylidin-l-arabinosid gleicht seinem Spiegelbild in Kristallform, Farbe und Sinterungspunkt. Es kristallisiert ebenfalls wie dieses mit wechselnden Mengen von Kristallwasser. Schmp. der aus Alkohol umkristallisierten Verbindung 111° (k. Th.).

$[\alpha]_D^{18} = (+ 0{,}08 \times 100) : (0{,}154 \times 2) = + 26^0 \pm 3^0$ (Pyridin)

4,212 mg Sbst.: 2,305 mg H_2O, 8,035 mg CO_2.

$C_{13}H_{18}O_6N_2$ (298,2) Ber. C 52,35 H 6,07.
Gef. C 52,13 H 6,11.

5. Triacetyl-l-arabinose-2-nitro-4,5-dimethyl-anilid (XIX).

Die dem Spiegelbild entsprechend (nach 3) dargestellte Substanz kristallisiert wie diese aus Alkohol in feinen biegsamen gelben Nadeln vom Schmp. 212° (k. Th.).

4,069 mg Sbst.: 1,91 mg H_2O, 8,075 mg CO_2. — 5,697 mg. Sbst.: 0,383 ccm N_2 (756 mm, 20°). — 5,338 mg Sbst.: 3,75 ccm n/100 NaOH.

$C_{19}H_{24}N_2O_9$ (424,2) Ber. C 53,75 H 5,70 N 6,60 CH_3CO 30,43.
Gef. C 53,94 H 5,84 N 6,52 CH_3CO 30,20.

$[\alpha]_D^{20} = (+ 0{,}23^0 \times 1P0) : (0{,}166 \times 1) = + 139^0 \pm 5^0$ ($CH_3 \cdot COOCH_3$).

6. l-Arabinose-2-nitro-4,5-dimethyl-anilid (2. Modifikation).

Durch Umkristallisieren von 20 g l-Arabinose-2-nitro-4,5-dimethyl-anilid, das in der unter 4. beschriebenen Art hergestellt war, konnte neben der Hauptform noch eine weitere Form durch ihre schwere Löslichkeit in Alkohol in ungefähr 5%iger Ausbeute isoliert werden. Wie durch die Phasenprobe nachgegewiesen werden konnte, mußte auch dieses Produkt durch Kondensation von l-Arabinose mit Nitroxylidin entstanden sein. Es unterscheidet sich in der Kristallform weitgehend von dem unter 4. beschriebenen Produkt. Während jenes in hellen prismatischen Nadeln kristallisiert, besteht dieses aus gelbroten

rhombischen Plättchen mit einem exakten Schmelzpunkt von 186° (k. Th. unter Aufschäumen).

$[\alpha]_D^{20} = (+ 0{,}50 \times 100) : (0{,}546 \times 1) = + 76{,}0^0 \pm 1^0$ (Pyridin).

Durch Behandeln mit Essigsäure-anhydrid in Pyridin gelangt man zu demselben Acetylprodukt wie durch Acetylieren von 4. Schmelzpunkt 213° (k. Th.).

$[\alpha]_D^{25} = (+ 0{,}50 \times 100) : (0{,}351 \times 1) = + 142{,}5^0 \pm 3^0$ (Methylacetat).

7. Racem. Triacetyl-d-l-arabinose-4,5-dimethyl-anilid.

Schmp. der l-Form: 213°; Schmp. der d-Form: 212°; Schmp. des Racemates 213—214°. Kristallform aller drei gleich: gelbe gekreuzte Stäbchen.

8. Trityl-l-arabinose-2-nitro-4,5-dimethyl-anilid (Formel XXIV).

200 mg l-Arabinose-2-nitro-4,5-dimethyl-anilid, dargestellt wie unter 4. beschrieben, werden mit 400 mg Triphenyl-chlormethan in 10 ccm trockenem Pyridin unter Ausschluß von Feuchtigkeit 2 Stunden lang auf 90° erhitzt. Nach dem Abkühlen wird die Lösung im Vakuum auf ungefähr 1 ccm eingeengt, mit 50 ccm Benzol versetzt und mit ebensoviel Wasser ausgeschüttelt. Das nicht umgesetzte Glucosid geht dabei in die wässerige Phase. Colorimetrisch läßt sich bestimmen, daß sich ungefähr 65 mg Arabinosid (30 %) nicht umgesetzt haben. Die benzolische Lösung wird so lange mit Wasser nachgewaschen, bis sie keinen Farbstoff mehr abgibt. Darauf wird die Lösung mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum zur Trockene gedampft. Man trocknet so lange, bis der Rückstand keinen Pyridingeruch mehr zeigt. Um das gebildete überschüssige Triphenylcarbinol abzutrennen, wird in 20 ccm Methanol gelöst, dieselbe Menge Petroläther hinzuzugeben und so lange tropfenweise Wasser, bis sich die Lösung entmischt. Das Trityl-arabinosid geht dabei in das wässerige Methanol. Man schüttelt zweimal mit 20 ccm Petroläther nach. Ein kleiner Teil des Arabinosids geht dabei in Petroläther, kann aber durch überschüssiges wässeriges Methanol der Lösung wieder entzogen werden.

Man engt die wässerige, alkoholische Lösung im Vakuum soweit ein, bis sie anfängt sich zu trüben, bringt den amorphen Niederschlag durch Erwärmen wieder in Lösung und läßt im Eisschrank auskristallisieren. Falls das Triphenylcarbinol noch nicht vollständig abgetrennt ist, fallen zuerst farblose Prismen aus. Man dampft dann die Mutterlauge zur Trockene, nimmt mit Benzol auf und unterwirft die Lösung der chromatographischen Adsorptionsanalyse, indem man sie durch eine Säule von Aluminiumoxyd (2 cm Durchmesser, 10 cm lang) filtriert. Dabei werden braune Verunreinigungen und die Tritylverbindung in der obersten Schicht adsorbiert, während Nitroxylidin, das von verseiftem Nitroxylidin-arabinosid herrührt, und etwaige kleine Mengen von Triphenylcarbinol durch überschüssiges Benzol ausgewaschen werden. Die Tritylverbindung kann durch gleiche Teile Benzol-Aethanol eluiert werden, während braune Verunreinigungen zurückbleiben. Das Eluat wird zur Trockene verdampft und mit heißem Methanol aufgenommen. Beim Abkühlen kommt das Trityl-l-arabinose-2-nitro-4,5-dimethylanilid zuerst als Oel heraus, nach mehrtägigem Stehen im Eisschrank fängt es an zu kristallisieren.

9. d-Ribose-2-nitro-4,5-dimethyl-anilid (Formel XXI ohne Acetyl).

2,6 g d-Ribose, 13 g Nitroxylidin und 0,3 g Ammonchlorid werden in 50 ccm absol. Alkohol im siedenden Wasserbad 1½ Stunden unter Rückfluß erhitzt. Man läßt abkühlen, saugt vom ausgefallenen Nitroxylidin ab und wäscht mit kaltem Alkohol nach. Es wird nun bei gewöhnlicher Temperatur durch eine Säule von Aluminiumoxyd (20 cm lang, 5 cm Durchmesser) filtriert. Dabei wird das Kondensationsprodukt in der oberen Zone adsorbiert, während unverändertes Nitroxylidin durch Benzol quantitativ ausgewaschen werden kann. Das Ribosid wird anschließend mit Pyridin-Methanol-Wasser 1 : 2 : 1 eluiert, die Lösung zur Trockene verdampft und der Rückstand mit wenig Alkohol aufgenommen. Zu dieser Lösung gibt man vorsichtig die dreifache Menge Benzol. Nach einigen Stunden setzt die Kristallabscheidung ein. Ausbeute ungefähr 4 g, davon 3,2 g kristallisiert.

Beim Schmelzen verhält sich die Substanz ähnlich wie die entsprechende Arabo-Verbindung (s. 2).

Aus Alkohol umkristallisiert schmilzt das Ribosid unter vorsichtigem Erhitzen, bei 70° eingebracht, bei 164° (k. Th.).
$[\alpha]_D^{20} = (+ 0{,}63^0 \times 100) : (0{,}35 \times 2) = + 90^0 \pm 3^0$ (Pyridin)

4,358 mg Sbst.: 2,35 mg H_2O 8,40 mg CO_2.

$C_{13}H_{18}O_6N_2$ Ber. C 52,35 H 6,07.
(298,2) Gef. C 52,57 H 6,03.

10. Tri-acetyl-d-ribose-2-nitro-4,5-dimethyl-anilid (XXI).

Die alkoholische Lösung des d-Ribose-2-nitro-4,5-dimethyl-anilids, aus der nur ein Teil dieser Verbindung auskristallisiert war, wurde zur Trockene gedampft, in 40 ccm trockenem Pyridin aufgenommen und mit 10 ccm Essigsäure-anhydrid versetzt. Man läßt über Nacht stehen, hält dann eine halbe Stunde bei ungefähr 50°. Man kühlt ab, versetzt mit 10 ccm Alkohol, dann mit 100 ccm Aether und schüttelt mit 100 ccm Eiswasser 3mal aus. Die ätherische Lösung wird mit Natriumsulfat über Nacht gut getrocknet und auf ungefähr 5 ccm eingedampft. Im Eisschrank scheiden sich dann nach 1 bis 2 Tagen schöne farblose derbe Prismen ab, die durch Schmelzpunkt und Analyse als Tetra-acetyl-d-ribose identifiziert werden konnten und von der nicht umgesetzten d-Ribose herrühren.

Tetra-acetyl-d-ribose aus Alkohol umkristallisiert: Schmp. 109° (k. Th.).

4,259 mg Sbst.: 2,26 mg H_2O, 7,71 mg CO_2.

$C_{13}H_{18}O_9$ Ber. C 49,04 H 5,70.
(318,14) Gef. C 49,13 H 5,92.

Zur Gewinnung von Impfkristallen für das Tri-acetyl-d-ribose-2-nitro-4,5-dimethyl-anilid wird ein Teil der ätherischen Lösung mit Benzin versetzt. Dabei scheidet sich das gewünschte Produkt zuerst in öliger Form ab. Im Laufe von ungefähr 14 Tagen beginnt es eben zu kristallisieren. Die ätherische Lösung mit der Hauptmenge des Anilids wird eingedampft, in 20 ccm Alkohol aufgenommen und mit den oben gewonnenen Kristallen geimpft, wobei alsbald die Kristallabscheidung in schönen, großen, gelben, abgeschrägten Prismen einsetzt. Schmp. 163° (k. Th.). (Abb. 3).
$[\alpha]_D^{20} = (+ 0{,}60^0 \times 100) : (0{,}18_7 \times 1) = + 160^0 \pm 5^0$ ($CH_3 \cdot COOCH_3$)

4,035 mg Sbst. 3 Stunden bei 100° und 1 mm über P_2O_5 getrocknet: 2,08 mg H_2O, 8,00 mg CO_2. 4,981 mg Sbst.: 0,291 ccm N_2 (751 mm, 19°).

$C_{19}H_{24}O_9N_2$	Ber.	C 53,75	H 5,84	N 6,60.
(424,2)	Gef.	C 54,08	H 5,77	N 6,75.

11. d-Glucose-2-nitro-anilid.

25 g chromatographisch gereinigtes o-Nitranilin werden mit 15 g Glucose und 1 g Ammonchlorid in 400 ccm absolutem, verg. Alkohol am Rückfluß zum Sieden erhitzt. Nachdem die Glucose in Lösung gegangen ist (nach ungefähr 5 Stunden), wird die Lösung im Vakuum auf 100 ccm eingeengt und in den Eisschrank gestellt. Das Glucose-Nitranilid und das nicht umgesetzte Nitranilin scheiden sich dabei aus. Falls man schon Kristalle des Glucosenitranilids hat, impft man die Lösung zweckmäßig an. Nach eintägigem Stehen wird die Lösung vollends zur Trockne gedampft und der Rückstand mit 300 ccm heißem Benzol behandelt. Dabei geht das Nitranilin und ein Teil des Kondensationsproduktes in Lösung; die Hauptmenge des letzteren bleibt ungelöst und wird nach Abfiltrieren aus Alkohol umkristallisiert. Die benzolische Lösung filtriert man durch eine Säule von Aluminiumoxyd; dabei wird das Nitranilid in der oberen Hälfte der Säule adsorbiert. Man wäscht das unveränderte Nitranilin mit Benzol quantitativ aus und eluiert den Farbstoff der oberen Zone mit Pyridin-Methanol-Wasser (1 : 2 : 1), dampft zur Trockne und kristallisiert ebenfalls aus Alkohol um. Das o-Nitranilid kristallisiert in schönen zitronengelben Nadeln. Die Ausbeute bei der Kondensation mit Glucose ist schwankend, da man wegen der schweren Löslichkeit der Glucose in Alkohol sehr lange erhitzen muß. Dabei tritt schon teilweise Dunkelfärbung ein. Mannose eignet sich weit besser zur Kondensation.

Schmelzpunkt des d-Glucose-o-nitranilids: 70—75°.

$[\alpha]_D^{20} = (+ 0{,}07^0 \times 100) : (0{,}134 \times 2) = + 26{,}1^0 \pm 3^0$ (Pyridin).

12. Tetra-acetyl-d-glucose-2-nitro-anilid (XXII ohne Methyl).

Aus obiger Verbindung durch Acetylieren, wie unter 3. angegeben, erhältlich. Die Substanz kristallisiert aus Alkohol in

schön ausgebildeten hellgelben Stäbchen mit einem Schmelzpunkt von 184° (k. Th.).

$[\alpha]_D^{20} = (-0{,}79^0 \times 100) : (0{,}525 \times 2) = -75{,}2^0 \pm 1^0$ (Methylacetat).

2 Stunden bei 1 mm und 80° über P_2O_5 getrocknet.

4,858 mg Sbst.: 0,259 ccm N_2 (753 mm, 22°). — 4,421 mg Sbst.: 2,08 mg H_2O, 8,32 mg CO_2.

$C_{20}H_{24}O_{11}N_2$ Ber. C 51,26 H 5,17 N 5,99.
(468,2) Gef. C 51,32 H 5,27 N 6,11.

13. l-Arabinose-2-nitro-anilid.

10 g chromatographisch gereinigtes o-Nitranilin werden mit 4 g l-Arabinose und 200 mg Ammonchlorid in 100 ccm absol. verg. Alkohol am Rückfluß zum Sieden erhitzt. Nach 1½-stündigem Erhitzen wird die Lösung im Vakuum auf die Hälfte eingeengt und wie unter 11. beschrieben aufgearbeitet. Ausbeute: 4—5 g. Die Substanz kristallisiert wie die entsprechende d-Gluco-Verbindung (11) in hellgelben Nadeln ohne exakten Schmelzpunkt. Zur Charakterisierung wurde die Substanz in ihre Acetylverbindung übergeführt.

14. Tri-acetyl-l-arabinose-nitro-anilid.

Aus obiger Verbindung durch Acetylieren mit Essigsäureanhydrid in Pyridin, wie unter 3. beschrieben, hellgelbe Stäbchen mit dem Schmp. 151° (k. Th.).

$[\alpha]_D^{20} = (+ 1{,}71^0 \times 100) : (0.639 \times 2) = + 133{,}8^0 \pm 1$ (Methylacetat)

5,337 mg Sbst.: 0,336 ccm N_2 (746 mm, 24°) 2 Stunden bei 80° und 1 mm über P_2O_5 getrocknet.

$C_{17}H_{20}O_9N_2$ Ber. N 7,07.
(396,18) Gef. N 7,10.

15. Triacetyl-d-xylose-o-nitranilid (XX ohne Methyl).

Triacetyl-d-xylose-2-nitro-anilid wird in derselben Weise wie die entsprechende l-Arabo-Verbindung (13 und 14) dargestellt und gleicht dieser in Kristallform und Farbe. Schmp. 149° (k. Th.).

$[\alpha]_D^{21} = (-0{,}63^0 \times 100) : (0{,}288 \times 2) = -109{,}5^0 \pm 2^0$ (Methylacetat)

5,344 mg Sbst.: 0,347 ccm N_2 (753 mm, 23°).
$C_{17}H_{20}O_9N_2$ Ber. N 7,07.
(396,18) Gef. N 7,14.

16. d-Glucose-2-nitro-4,5-dimethylanilid (Formel XXII ohne Acetyl).

5 g 1-Amino-2-nitro-4,5-dimethylbenzol und 6 g d-Glucose werden in 300 ccm abs. Alkohol zusammen mit 1 g Ammonchlorid 5 Stunden am Rückfluß erhitzt. Nachdem alles in Lösung gegangen ist, wird, wie unter 11. beschrieben, aufgearbeitet. Ausbeute 3,5 g.

Die Substanz kristallisiert aus Alkohol in orangegelben rhombischen Plättchen ähnlich wie die zweite Modifikation von l-Arabo-2-nitro-4,5-dimethyl-anilid (6). Sie hat einen exakten Schmp. von 214° (k. Th., unter Aufschäumen).

$[\alpha]_D^{21} = (+ 0{,}08^0 \times 100) : (0{,}344 \times 2) = + 11{,}6^0$ (Pyridin).

17. Tetra-acetyl-d-glucose-2-nitro-4,5-dimethyl-anilid (XXII).

Wie unter 3. beschrieben aus obiger Verbindung (16) dargestellt. Aus Alkohol erhält man die Substanz in hellgelben Stäbchen, die auffallenderweise keinen scharfen Schmp. zeigen.

$[\alpha]_D^{22} = (- 1{,}06^0 \times 100) : (0{,}815 \times 2) = - 65{,}1^0 \pm 0{,}5^0$ (Methylacetat)

4,235 mg Sbst.: 2,320 mg H_2O, 8,245 mg CO_2. — 5,402 mg Sbst.: 0,267 ccm N_2 (748 mm, 22°).
$C_{22}H_{28}O_{11}N_2$ Ber. C 53,20 H 5,69 N 5,65.
(496,23) Gef. C 53,10 H 6,13 N 5,63.

18. d-Mannose-2-nitro-4,5-dimethyl-anilid (Formel XXIII ohne Acetyl).

Die Mannose eignet sich wegen ihrer leichten Löslichkeit in Alkohol sehr gut zur Kondensation mit o-Nitranilinen.

4 g Nitroxylidin, 5 g Mannose und 0,5 g Ammonchlorid werden in 100 ccm absol. Alkohol 2½ Stunden am Rückfluß erhitzt und, wie unter 11. beschrieben, aufgearbeitet. Ausbeute 4 g. Die aus Alkohol in orangegelben Nadeln kristallisierende Verbindung hat keinen exakten Schmelzpunkt.

$[\alpha]_D^{20} = (- 0{,}26 \times 100) : (0{,}316 \times 2) = - 41{,}1^0 \pm 1^0$ (Methylacetat).

19. Tetra-acetyl-d-mannose-2-nitro-4,5-dimethyl-anilid (XXIII).

Aus vorstehender Verbindung (18) durch Acetylierung in Pyridin mit Essigsäure-anhydrid zu erhalten. Die Substanz kristallisiert aus Alkohol in gelben Nadeln mit einem Schmp. von 218° (k. Th.).

$[\alpha]_D^{22} = (-0{,}86^0 \times 100) : (0{,}458 \times 2) = -93{,}8^0 \pm 0{,}5^0$ (Methylacetat)

5,680 mg Sbst.: 0,299 ccm N_2 (748 mm, 21°). — 4.195 mg Sbst.: 2,220 mg H_2O, 8,140 mg CO_2.

$C_{22}H_{28}O_{11}N_2$	Ber.	C 53,20	H 5,69	N 5 65.
(496,23)	Gef.	C 52,92	H 5 92	N 5,84.

20. Trityl-d-mannose-2-nitro-4,5-dimethyl-anilid (Formel XXV).

200 mg d-Mannose-2-nitro-4.5-dimethyl-anilid und 400 mg Triphenylchlormethan werden in 10 ccm trockenem Pyridin unter Feuchtigkeitsausschluß 2 Stunden auf 90° erhitzt und nach der unter 8. gegebenen Vorschrift aufgearbeitet. Die colorimetrische Bestimmung der wässerigen Lösung nach dem Ausschütteln mit Benzol zeigt, daß sich 92 % des Mannosides zur Tritylverbindung umgesetzt haben.

Die aus wässerigem Methanol umkristallisierte Substanz kristallisiert in gelben prismatischen Stäbchen, die eine gute Löslichkeit in Benzol, Alkohol und Pyridin besitzen. In Wasser sind sie beinahe unlöslich. Die Verbindung zeigt einen Schmp. von 130° (k .Th., unter Zersetzung).

2 Stunden bei 1 mm und 35° über P_2O_5 getrocknet.

4,308 mg Sbst.: 2,39 mg H_2O. — 10,595 mg CO_2.

$C_{33}H_{24}O_7N_2 . 1\ H_2O$	Ber.	C 67,30	H 6,17.	
(588,35)	Gef.	C 67,07	H 6,21.	

21. Palladiumhydroxydan Bariumsulfat.

80.5 g Natriumsulfat ($Na_2SO_4 \cdot 10H_2O$) werden in 400 ccm heißem Wasser gelöst. Diese Lösung läßt man langsam zu 61.1 g Bariumchlorid ($BaCl_2 . 2H_2O$), gelöst in 400 ccm heißem Wasser, zufließen. Man läßt absitzen, dakantiert zweimal und zentrifugiert von der überstehenden Lösung ab. Der feuchte Niederschlag wird in 750 ccm Wasser aufgeschlämmt und die Flüssigkeit zum

Sieden erhitzt. Dazu gibt man eine Lösung von 5 g Palladiumchlorür in 100 ccm 2 n HCl. Zur Neutralisation der Salzsäure gibt man 95 ccm 2 n NaOH zu. Nun läßt man unter starkem Rühren zu der kochenden Suspension langsam verdünnte Sodalösung zufließen, bis alles Palladium auf dem Bariumsulfat niedergeschlagen ist. Man läßt absitzen, dekantiert zweimal und zentrifugiert. Man erhält so 60 g 4%iges Palladiumhydroxyd an Bariumsulfat, das über Aetzkali im Vakuum getrocknet und in der Reibschale staubfein pulverisiert wird.

22. Palladiumhydroxyd (mit Zink- und Kupferhydroxyd) an Calciumcarbonat.

110 g Calciumchlorid ($CaCl_2 6H_2O$) werden in 400 ccm heißem Wasser gelöst und langsam mit einer Lösung von 144 g Soda ($Na_2CO_3 \cdot 10\ H_2O$) in 400 ccm heißem Wasser gefällt. Man läßt absitzen, dekantiert und wäscht zweimal mit Wasser nach. Zum Schluß wird bei niedriger Tourenzahl zentrifugiert, damit der Niederschlag nicht zu stark zusammensitzt. Den nassen Kuchen schwämmt man in 600 ccm Wasser auf und gibt bei 20° eine Lösung von 2 g Palladiumchlorür, 0,1 g Zinksulfat und 0,025 g Kupfersulfat in 100 ccm schwach angesäuertem Wasser hinzu. Man erwärmt vorsichtig auf dem Dampfbad unter starkem Schütteln auf 30°. Dabei schlägt sich das Metall langsam als Hydroxyd auf dem Calciumcarbonat nieder. Sobald alles niedergeschlagen ist, wird die überstehende Lösung farblos. Es wird dekantiert, zweimal mit Wasser nachgewaschen, zentrifugiert und im Vakuum über Aetzkali gut getrocknet. Nach der Pulverisierung im Porzellanmörser erhält man ein staubfeines Produkt. Dieser Katalysator zeigt eine sehr feine Aufschlämmung in Wasser und zeichnet sich durch eine hohe Aktivität aus. Er ist gleichwertig dem oben beschriebenen 4%igen Palladiumhydroxyd an Bariumsulfat, obwohl er nur 1% Metall enthält.

23. 6,7-Dimethyl-9-l-arabo-flavin (Formel II).

2 g l-Arabinose-2-nitro-4,5-dimethyl-anilid (4) werden in 400 ccm 80%igem Aethanol in der Wärme gelöst. Zu der abgekühlten Lösung gibt man 17 ccm einer 0,4 molaren NaH_2BO_3-Lösung (hergestellt durch Lösen von 4 g Aetznatron und 2,4 g Borsäure in 500 ccm Wasser). Als Katalysator verwendet man 5 g

Palladiumhydroxyd an Calciumcarbonat (22). Die Lösung wird bei einem Wasserstoffdruck von 25 Atmosphären zuerst eine Stunde bei 20° und dann unter langsamen Steigern der Temperatur 6 Stunden bei 80° hydriert. Nach dem Abkühlen wird vom Katalysator abzentrifugiert und im Vakuum zur Trockne verdampft. Gegen Ende der Destillation schäumt die Lösung sehr stark. Man läßt deshalb langsam absol. Alkohol zutropfen, bis der Rückstand vollkommen wasserfrei ist. Man kann dazu den Alkohol nehmen, mit dem man den Katalysator ausgewaschen hat. — Das starke Schäumen der Lösung rührt davon her, daß die Oberflächenspannung des Wassers durch die hydrierten Zucker-o-nitranilide stark herabgesetzt wird. Von dieser Eigenschaft macht man in der Färbereitechnik Gebrauch. Man benützt allerdings das einfachere und billigere hydrierte Glucoseanilid. —

Der Rückstand wird mit 30 ccm Eisessig aufgenommen und langsam zu einer erkalteten Aufschlämmung von 1,4 g Alloxan und 1,4 g Borsäure in Eisessig gegossen. Beim Eingießen wird die Lösung stark dunkel (braun-grün). Man schüttelt die Lösung ½ Stunde bei ungefähr 40° und läßt über Nacht stehen. Das Flavin scheidet sich in dunkelgrünen Kristallen ab. Durch Lösen in 20 ccm 0,5 n NaOH und Schütteln mit Luft geht die grüne Farbe der Lösung in Gelbbraun über. Beim Ansäuern mit verdünnter Essigsäure kristallisiert das Flavin in schönen gelben Nadelbüscheln aus. Die Eisessigmutterlauge wird zur Trockne verdampft und der Rückstand aus verdünnter Essigsäure umkristallisiert. Ausbeute 1440 mg Flavin (60 % d. Th.). Gewichtsmäßig ist die Ausbeute höher, was davon herrührt, daß das Flavin trotz stimmendem Schmelzpunkt noch ungefähr 10 % farblose Beimischungen enthält. Um die Reinheit eines Flavins zu prüfen, ist es unbedingt erforderlich, die Extinktion im Stufenphotometer (Zeiß) zu messen. Für Filter S 47 ist dabei die Extinktion für 100 γ in 1 ccm Wasser $\varepsilon = 3{,}10$.

Das aus der Eisessig-Mutterlauge auskristallisierende Produkt zeigt eine durchschnittliche Extinktion von $\varepsilon = 2{,}6$. Durch mehrstündiges Kochen des Niederschlags in 300 ccm absol. Alkohol kann das Flavin leicht in absolut reiner Form (mit $\varepsilon = 3{,}10$) erhalten werden. Das Flavin selbst bleibt dabei fast vollkommen ungelöst. Die richtigen Analysenwerte allein sind für die Reinheit eines Flavinpräparates noch nicht bestimmend,

da die Verunreinigungen selbst meist einen von Flavin sich nur wenig unterscheidenden C/H-Wert besitzen.

Man kann ein Flavinpräparat erst als vollkommen rein bezeichnen, wenn es in Drehung (in $\frac{n}{10}$ NaOH und in Natriumborat) Extinktion und Analyse mit den unten angegebenen Werten übereinstimmt. Differenzen im Schmelzpunkt von einigen Graden brauchen nicht von mangelnder Reinheit herzurühren.

Schmp. 310° (k. Th., unter Aufschäumen).

$[\alpha]_D^{25} = (-0{,}26 \times 100) : (0{,}358 \times 1) = -72{,}6^0 \pm 2^0$ ($\frac{n}{10}$ NaOH)

$[\alpha]_D^{22} = (+0{,}65 \times 100) : (0{,}147 \times 1) = +442^0 \pm 8^0$ (0,4 m NaH_2BO_3)

4,155 mg Sbst.: 2,07 mg H_2O, 8,27 mg CO_2.

$C_{17}H_{20}N_4O_6$	Ber.	C 54,23	H 5,36.
(376,2)	Gef.	C 54,28	H 5,58.

24. 6,7-Dimethyl-9-d-riboflavin (Lactoflavin) (Formel I).

Dieses Flavin, das mit dem Vitamin B_2 identisch ist, wird in derselben Weise wie die l-Araboverbindung (20) aus d-Ribose-2-nitro-4,5-dimethyl-anilid (9) hergestellt. Nach der Kondensation mit Alloxan kristallisiert das Flavin sofort in gelben prismatischen Nadeln aus. Für die Angaben über den Reinheitsgrad gilt das unter 23. gesagte. Um Lactoflavin in absolut reiner Form zu gewinnen, wird es im Soxhlet mit absol. Alkohol extrahiert. Man gewinnt das Flavin so in feinen verfilzten Nadeln. Die Ausbeuten stimmen mit denen der l-Araboverbindung (23) (60 % d. Th.) überein. Das Vitamin B_2, das auf diese Art synthetisiert wurde, stimmt in allen Eigenschaften, wie Wachstumswirkung, Drehung und Schmelzpunkt mit dem aus Molke isolierten gelben Farbstoff überein.

Schmp. 290° (k. Th., unter Aufschäumen).

$[\alpha]_D^{22} = (-0{,}40^0 \times 100) : (0{,}35 \times 1) = -114^0$ ($\frac{n}{20}$ NaOH)

4,155 (3,137) mg Sbst.: 2,040 (1,530) mg H_2O, 8,265 (6,245) mg CO_2.

$C_{17}H_{20}N_4O_6$	Ber.	C 54,23		H 5,36.	
(376,2)	Gef.	C 54,25	(54,29)	H 5,49	(5,46).

25. 9-Triacetyl-d-arabinosido-6,7-dimethyl-flavin (Spiegelbild von XL).

0,30 g Triacetyl-d-arabinose-2-nitro-4,5-dimethyl-anilid werden in 8 ccm Essigsäure-methylester gelöst, mit 0,50 g Triäthylamin versetzt und mit 0,050 g Platinoxyd und Wasserstoff von 1 atü geschüttelt. Nach längstens 60 Minuten ist die Lösung entfärbt. Hierauf gießt man durch einen Filter in eine erkaltete Lösung von 0,20 g Alloxan-monohydrat und 0,20 g Borsäure in 30 ccm Eisessig. Dabei färbt sich das Reaktionsgemisch zunächst dunkelgrün, im Laufe einer Stunde geht die Farbe über Braun in reines Gelb mit grüner Fluoreszenz über. Nach weiteren 2 Stunden (15—20°) wird so rasch als möglich mit Wasser verdünnt und mit Chloroform ausgeschüttelt. Man wäscht die Chloroformlösung gründlich mit Wasser (3—4mal), trocknet über Natriumsulfat, verdampft und kristallisiert den Rückstand aus 200—300 ccm siedendem absol. Alkohol um, den man, wenn alles in Lösung gegangen ist, wieder einengt. Die Ausbeute an 9-Triacetyl-d-arabinosido-6,7-dimethyl-flavin beträgt 60—65% d. Th. (0,21—0,23 g). Die Substanz stellt gelbe, feine, biegsame Nadeln dar, die zu Büscheln vereinigt sind und unter Zersetzung bei 240° (k. Th.) schmelzen. Die Substanz ist löslich in Chloroform, Essigester und Benzol, auch in heißem Wasser, nur wenig löslich in Aether, aus Alkohol und Essigester kristallisiert sie besonders gut.

4,343 mg Sbst.: 1,84 mg H_2O. 8,755 mg CO_2. — 3,800 mg Sbst.: 0,368 ccm N_2 (750 mm, 21°).

$C_{23}H_{24}N_4O_9$ (500,2) Ber. C 55,17 H 4,84 N 11,19.
Gef. C 54,98 H 4,74 N 11,10.

$]\alpha]_D^{18}$ = (— 1,52° × 100) : (0,168 × 2) = — 453° ± 5° (Essigsäure-methylester)

$[\alpha]_D^{20}$ = (— 1,00° × 100) : (0,098 × 2) = — 510° ± 5° (n/10 NaOH t = 0)

$[\alpha]_D^{20}$ = (— 1,00° × 100) : (0,0732 × 2) = — 684° ± 5° (dass. auf freies Flavin berechn.)

Spaltung durch Alkali. Eine Lösung, die 0,98 mg Triacetyl-9-d-arabinosido-6,7-dimethyl-flavin in 1 ccm n/10 Natronlauge enthielt, wurde im 2 dm-Rohr polarisiert.

t (Min.)	0	30	50	90	120	180	240	420	1320
α_D (°)	—1.00°	—0.84°	—0,745°	—0,66°	—0,59°	—0,475°	—0,39°	—0,25°	0,13°

Die Lösung fluoreszierte anfangs gar nicht, nahm aber im Laufe der Zeit gelbgrüne Fluoreszenz an.

26. 9-d-Arabinosido-6,7-dimethyl-flavin (Spiegelbild von XLI).

100 mg der Triacetyl-Verbindung (Spiegelbild von XL) wurden in 10 ccm absol. Methanol (mit Mg entwässert) suspendiert und mit 10 ccm absol. Methanol, das bei 0° mit Ammoniakgas gesättigt war, versetzt. Dabei ging sofort aller Farbstoff mit tiefgelber Farbe in Lösung. Nach ½stündigem Stehen bei 20° wurde in den Eisschrank gestellt, wo über Nacht das freie Flavinglucosid praktisch quantitativ in dunkelgelben flachen Prismen auskristallisierte. Zur Analyse wurde aus Alkohol umkristallisiert, bei 100° über P_2O_5 (1 mm) getrocknet und ½ Stunde an der Luft (18°) aufbewahrt, wonach das Monohydrat vorlag. Das wasserfreie Arabinosidoflavin ist äußerst hygroskopisch.

4,437 mg Sbst.: 2,06 mg H_2O, 8,45 mg CO_2. — 3,535 mg Sbst.: 0,435 ccm N_2 (743 mm, 18°).

$C_{17}H_{18}N_4O_6$ (392,2) Ber. C 52,02 H 5,14 N 14,29.
Gef. C 51,94 H 5,19 N 14,11.

Die Substanz ist mit gelber Farbe und intensiv grüner Fluoreszenz löslich in Wasser, Alkohol, Essigester und Pyridin, unlöslich in Aether und Benzol.

Zur Bestimmung des Drehungsvermögens diente das Monohydrat:

$[\alpha]_D^{20} = (-1{,}61^0 \times 100) : (0{,}192 \times 2) = -418^0$ (Pyridin).

27. 9-Triacetyl-l-arabinosido-6,7-dimethyl-flavin (XL).

Dem optischen Antipoden entsprechend (nach 25) dargestellt; aus Alkohol feine gelbe Nadeln vom Schmp. 239° (k. Th.).

2,875 mg Sbst.: 1,29 mg H_2O, 5,75 mg CO_2. — 3,800 mg Sbst.: 0,368 ccm N_2 (750 mm, 21°).

$C_{23}H_{24}N_4O_9$ (521,2) Ber. C 55,17 H 4,84 N 11,19.
Gef. C 54,81 H 5,05 N 11,10.

$[\alpha]_D^{18} = (+ 0{,}98^0 \times 100) : (0{,}117 \times 2) = + 440^0 \pm 5^0$ (Essigsäuremethylester)

$[\alpha]_D^{22} = (+ 0{,}59^0 \times 100) : (0{,}0568 \times 2) = + 519^0 \pm 5^0$ ($\frac{n}{10}$ NaOH für t = 0)

$[\alpha]_D^{22} = (+ 0{,}59^0 \times 100) : (0{,}0424 \times 2) = + 694^0 \pm 5^0$ ($\frac{n}{10}$ NaOH für t = O auf freies Flavin berechnet)

$[\alpha]_D^{22} = (+ 0{,}20^0 \times 100) : (0{,}0284 \times 2) = + 352^0 \pm 15^0$ ($\frac{n}{10}$ NaOH + 1 Teil ges. Borax)

$[\alpha]_D^{22} = (+ 0{,}20^0 \times 100) : (0{,}0212 \times 2) = + 471^0 \pm 20^0$ (dass. auf freies Flavin berechn.)

Saure Hydrolyse. 89,6 mg Triacetyl-9-l-arabinosido-6,7-dimethyl-flavin wurden mit 40 ccm n/10 Salzsäure 4 Stunden auf 100° erhitzt. Dabei schieden sich 42,7 mg (ber. 43,3 mg) 6,7-Dimethyl-alloxazin aus, die zur Analyse aus Ameisensäure (etwa 50 ccm) umkristallisiert und 8 Stunden bei 135° unter 1 mm getrocknet wurden.

$C_{12}H_{10}N_4O_2$ (242,1) Ber. N 23,10 Gef. N 23,30.

Das salzsaure Filtrat, im Vakuum auf 11 ccm eingeengt, zeigte

$[\alpha]_D^{20} = (+ 0{,}48^6 \times 100) : (0{,}24 \times 2) = + 100^0 \pm 4^0$

auf freie Pentose berechnet, während für l-Arabinose $[\alpha]_D^{20} = +105_0$ ist.

28. 9-l-Arabinosido-6,7-dimethyl-flavin (XLI).

In gleicher Weise wie die d-Form aus der Triacetyl-Verbindung durch Verseifung mit methylalkoholischem Ammoniak.

3,014 mg Sbst.: (749 mm, 20°) = 0,369 ccm N.

$C_{17}H_{18}N_4O_6 + 1\ H_2O$ (392,18) Ber. N 14,29 Gef. N 14,04.

29. Racem. Tri-acetyl-d-l-arabinosido-6,7-dimethyl-flavin.

Schmp. d. l-Form: 238°; Schmp. der d-Form: 240°.

Kristallform: feine biegsame gelbe Nadeln. Schmp. des Racemates: 260° (k. Th.). Kristallform: feine glänzende Blättchen.

30. 9-Tri-acetyl-d-ribosido-6,7-dimethyl-flavin (XXXVIII).

Diese den Triacetyl-arabinosido-flavinen entsprechend dargestellte Verbindung zeigte bisher noch keine Neigung zur Kristallisation. Aus warmem Benzol schied sie sich beim Erkalten in gelben Flocken aus.

31. 9-d-Ribosido-6,7-dimethyl-flavin (XXXIX).

Die Verseifung der Triacetylverbindung wurde nach der unter 26. angegebenen Vorschrift mit methylalkoholischem Ammoniak vorgenommen, wobei das Flavin-ribosid in orangegelben abgeschrägten Prismen (Abb. 4) ausfiel, die aus absol. Methanol umkristallisiert wurden. Beim Erhitzen tritt zwischen 180° und 200° Zersetzung unter Farbaufhellung (Alloxazinbildung) ein.

Das 9-d-Ribosido-6.7-dimethyl-flavin löst sich mit gelber Farbe und intensiv grüner Fluoreszenz in Wasser, Alkohol, Pyridin und Essigester, nur ganz wenig in Chloroform, dem es durch Schütteln mit Wasser sofort quantitativ entzogen wird. In Aether, Hexan und Benzol ist es unlöslich. n/10 Natronlauge löst mit dunkelgelber Farbe (nicht fluoreszierend), beim längeren Stehen der alkalischen Lösung tritt gelbgrüne Fluoreszenz auf (Zersetzung). Beim Neutralisieren der frisch bereiteten Lösung in verd. Alkali bildet sich das Flavinribosid aus seinem Natriumsalz zurück, gibt man überschüssige Säure zu, so erfolgt Hydrolyse in d-Ribose und 6,7-Dimethylalloxazin.

$[\alpha]_D^{20} = (+ 0{,}27^0 \times 100) : (0{,}058 \times 1) = + 466^0 \pm 10^0$ (Pyridin)

zum Vergleich Lactoflavin in Pyridin

$[\alpha]_D^{20} = (- 0{,}02^0 \times 100) : (0{,}032 \times 2) = - 30^0 \pm 15^0$

2,195 mg Sbst.: 0.287 ccm N_2 750 mm, 17°, getrocknet 4 Stunden bei 135° und 1 mm.

$C_{17}H_{18}N_4O_6$ (374,16) Ber. N 14,97 Gef. N 15,19.

Wie die C/H-Bestimmung zeigt, enthält die Substanz trotz Trocknung bei 135° noch ungefähr $^1/_4$ Mol Wasser:

2,338 mg Sbst.: 1,06 mg H_2O, 4,605 mg CO_2.

Ber. C 54,52 H 4,85.

Gef. C 53,77 H 5,07.

Ber. (für $^1/_4$ Mol H_2O enthaltend) C 53,97 H 4,93.

32. Verdo-flavin (broncierend, grün) (XLII).

200 mg 6,7-Dimethyl-9-l-araboflavin (28) werden in 4 ccm 0,3 n Natronlauge gelöst. Zu dieser tiefgelben Lösung gibt man tropfenweise 5%ige Natriumhyposulfitlösung, worauf sich ein schmutzig grüner voluminöser Niederschlag bildet. Sobald neues Hyposulfit keine weitere Fällung hervorruft, erhitzt man die Lösung zum Sieden. — Diese, wie auch alle folgenden Ope-

rationen, sind unter reinstem Stickstoff auszuführen, da das Verdoflavin in Gegenwart von Wasser durch Sauerstoff augenblicklich dehydriert wird. — Beim Abkühlen der Lösung scheiden sich schöne, kupferähnlich glänzende grüne Nadeln ab. Diese werden zweimal mit Wasser und darauf mit Aceton gewaschen. Das Verdoflavin zersetzt sich schon beim Erwärmen auf 40°. Behandelt man es mit Wasser, so geht es augenblicklich unter Rückbildung von gelbem Flavin in Lösung. Das getrocknete Präparat wird beim Liegen an der Luft erst im Laufe mehrerer Stunden gelb.

Bei 20° und 1 mm über P_2O_5 2 Stunden getrocknet.

4,154 mg Sbst.: 0,409 mg Na_2SO_4.

$C_{17}H_{21}N_4O_6 . C_{17}H_{19}N_4O_6Na$ Ber. Na 2,97 Gef. Na 3,19.

I. Sauerstoffverbrauch ohne Zusatz.

2,064 mg Sbst. in 3 ccm $\frac{n}{100}$ NaOH mit O_2 geschüttelt, verbrauchten bei 25° innerhalb von 10 Minuten*) 30.7 mm³ (760 mm 0°) berechnet für $\frac{O_2}{4}$ (M = 387,7). 30.5 mm³ (760 mm 0°).

II. Sauerstoffverbrauch in Gegenwart von Cyankali.

9,378 mg Sbst. in 3 ccm $\frac{n}{50}$-NaOH mit O_2 geschüttelt, verbrauchten bei 25° innerhalb von 10 Minuten*) 130 mm³ (760 mm 0°) berechnet für $\frac{O_2}{4}$ (M = 387,7) 135 mm³ (760 mm 0°).

III. Sauerstoffverbrauch in Gegenwart von Platin.

9,031 mg Sbst. in 3 ccm $\frac{n}{50}$ NaOH mit O_2 geschüttelt, verbrauchten bei 25°, nach 10 Minuten*) 66 mm³ (760 mm 0°), berechnet für $\frac{O_2}{8}$ (M = 387,7) 65,4 mm³ (760 mm 0°).

33. Rhodoflavin (XLIV) (Abb. 5).

500 mg 6,7-Dimethyl-9-l-araboflavin werden in 10 ccm 0,1 n Natronlauge gelöst und mit 100 mg Palladiumoxyd [13a]) bei Atmosphärendruck hydriert. Die braungelbe Lösung färbt sich lang-

*) Nach dieser Zeit konstant.

sam grün und nach ungefähr ½ Stunde scheidet sich das Verdoflavin in grünen Kristallen ab. Hydriert man weiter, so löst sich das Flavin wieder langsam. Sobald alles in Lösung gegangen ist (Bildung der Leukoform), unterbricht man die Hydrierung, indem man Stickstoff durch den Kolben leitet und unter Luftausschluß vom Katalysator abfiltriert. Darauf gibt man zu dem schwach alkalischen Filtrat 20 ccm konz. Salzsäure und wirbelt die blutrote Lösung mit einem Stickstoffstrom kräftig auf, damit der zunächst ausgefallene voluminöse rote Niederschlag wieder in Lösung geht. Man verdünnt die rote Lösung langsam mit 20 ccm Wasser, worauf sich schöne karmoisinrote Nadeln abscheiden. Man läßt einige Stunden im Eisschrank stehen, zentrifugiert ab und wäscht zweimal mit 2 n Salzsäure und zum Schluß mit Aceton. Die Substanz kann bei 100° im Vakuum über Aetzkali getrocknet werden. Beim Erhitzen über 150° erleidet sie Zersetzung unter Schwarzfärbung.

6,110 mg Sbst. : 198 mg AgCl; 6,195 mg Sbst. : 2,02 mg AgCl.

$C_{17}H_{21}N_4O_6HCl$. $C_{17}H_{22}N_4O_6HCl$ Ber. Cl 8,58.
Gef. Cl 8,07 8,03.

I. Sauerstoffverbrauch ohne Zusatz.

6,853 mg Sbst. in 2 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH mit 0_2 geschüttelt, verbrauchten bei 25° nach 10 Minuten*) 267 mm³ (760 mm 0°).
berechnet für $\frac{30_2}{4}$ (M = 414,2) 275 mm³ (760 mm 0°).

II. Sauerstoffverbrauch in Gegenwart von Platin.

6,00 mg Sbst. in 2 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH mit 0_2 geschüttelt, verbrauchten bei 25° nach 15 Minuten 128,5 mm³ (760 mm 0°), berechnet für $\frac{30_2}{8}$ (M = 414,2) 122 mm³ (760 mm 0°).

An der Luft ist das Rhodoflavin nicht sehr haltbar, aber doch weit beständiger als Verdoflavin. In 2 n Salzsäure ist es nur sehr wenig löslich, in konz. Salzsäure löst es sich sehr leicht mit blutroter Farbe. Durch Wasser erleidet es die im folgenden beschriebene Hydrolyse.

---

*) Nach dieser Zeit konstant.

34. Braune Base des Rhodoflavins.

Behandelt man Rhodoflavin mit Wasser unter Ausschluß von Luft, so erleidet es Hydrolyse und wird braun. Die Kristallform ändert sich dabei nicht. Dieses braune Flavin ist nur unter großen Vorsichtsmaßregeln zu isolieren, schon durch Spuren von Luft wird es grün.

35. Chloro-flavin (XLIII).

Die frisch dargestellte braune Base (34) wird in Wasser aufgeschwämmt und so lange mit Luft geschüttelt, bis der Niederschlag rein grüne Farbe angenommen hat. Die Dehydrierung wird durch Einleiten von Stickstoff unterbrochen und die Substanz von der überstehenden Lösung durch Zentrifugieren abgetrennt, zweimal mit Wasser und dann mit Aceton gewaschen. Schöne grüne Nadeln mit einem Schmelzpunkt von 288° (k. Th.). Die grüne Farbe blieb bis nahe an den Schmelzpunkt erhalten, obwohl die Substanz in Gegenwart von Luft erhitzt wurde.

Die Substanz wurde im Vakuum bei 100° über P_2O_5 getrocknet.

Die Chlorbestimmung ergab nur unwägbare Spuren von Silberchlorid.

I. Sauerstoffverbrauch in Gegenwart von wenig Platin.

6,68 mg Sbst. in 2 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH mit O_2 geschüttelt, verbrauchten bei 25° nach 2 Minuten 132 mm³ (760 mm 0°).
nach 15 Minuten 115 mm³ (760 mm 0°).
nach 65 Minuten 105 mm³ (760 mm 0°).
nach 100 Minuten 99,5 mm³ (760 mm 0°).
nach 780 Minuten 99 mm³ (760 mm 0°).
berechnet für $\frac{O_2}{4}$ (M = 377,2) 99,7 mm³ (760 mm 0°).

II. Sauerstoffverbrauch in Gegenwart von Platin*).

6,987 mg Sbst. in 2 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH mit O_2 geschüttelt, verbrauchten bei 25° nach 10 Minuten 99 mm³ (760 mm 0°),
berechnet für $\frac{O_2}{4}$ (M = 377,2) 104 mm³ (760 mm 0°).

*) Dieselbe Menge Platin wie bei der Dehydrierung von 32 und 33.

CH-Bestimmung.

3,991 mg Sbst.: 2,26 mg H_2O, 7,815 mg CO_2.

$C_{17}H_{21}N_4O_6$ Ber. C 54,08 H 5,61.

(377,2) Gef. C 53,40 H 6,34.

Lebenslauf.

Ich bin am 16. Juni 1911 in Leonberg, Württemberg, geboren. In Stuttgart besuchte ich das Karlsgymnasium und nach Uebersiedlung meiner Eltern nach Ludwigshafen a. Rh. das Realgymnasium in Mannheim, wo ich auch Ostern 1930 mein Abitur machte.

Hierauf studierte ich an der Universität Freiburg Chemie. Nach 3 Semestern ging ich an die Universität München und machte dort im Frühjahr 1932 mein I. Verbandsexamen und im Sommer 1934 mein II. Verbandsexamen bei Herrn Geheimrat Professor Dr. H. Wieland.

Rudolf Ströbele.

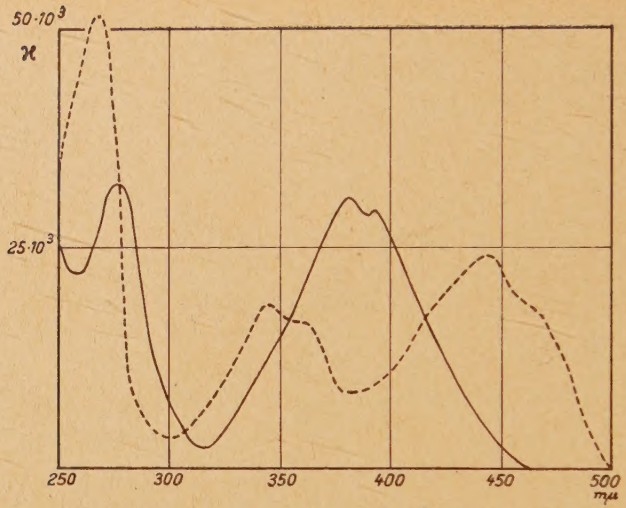


Abb. 1. Absorptions-Spektren in Methylacetat.
····· 6,7-Dimethyl-9-l-triacetylarabinosido-flavin
—— Triacetyl-l-arabinose-o-nitranilid
Abszissen: Wellenlänge in mμ
Ordinaten: $= \frac{2{,}30}{c \cdot d} \log \frac{I_0}{I}$ (c in Mol/Liter, d in cm)

Abb. 2. Kinetik der Photolyse von:
6,7-Dimethyl-9-d-arabinosido-flavin (o)
6,7-Dimethyl-9-d-arabinose-flavin (×)
(In Wasser; 500 Watt-Lampe, 30 cm Abstand, bei 22°)
Ordinate γ Flavin in 1 ccm.

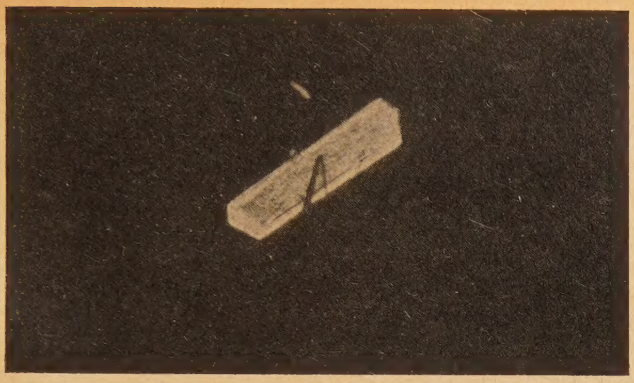


Abb. 3. Triacetyl-d-ribose-2-nitro-4,5-dimethylanilid aus Alkohol

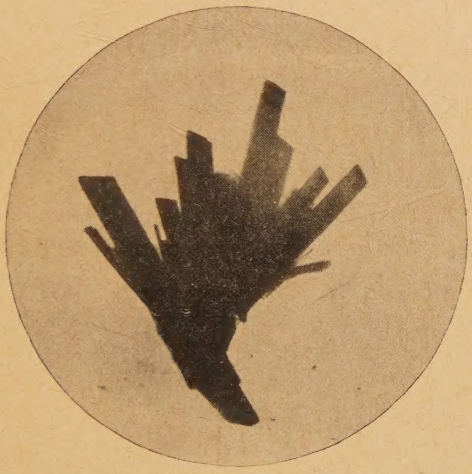


Abb. 4. 6,7-Dimethyl-9-d-ribosidoflavin aus NH_3-haltigem Methanol

Abb. 5. Rhodoflavin aus Wasser